

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**Optimisation en temps réel de la production de microalgues en
photobioréacteur par la commande extrémale**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en ingénierie

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

PAR

©Pierre St-Onge

Août 2013

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

Composition du jury :

Ahmed Chebak, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Jean-Sébastien Deschênes, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Réjean Tremblay, codirecteur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Éric Poulin, examinateur externe, Université Laval

Dépôt initial le 7 janvier 2013

Dépôt final le 16 août 2013

REMERCIEMENTS

Pour commencer, je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de recherche Jean-Sébastien Deschênes pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet ainsi que pour toute l'aide qu'il a pu m'apporter lors de la réalisation de cette maîtrise.

Je remercie également NutrOcéan, une entreprise aquacole fondée à Rimouski qui était étroitement lié au projet, dont le soutien technique m'a permis de mener à bien ma maîtrise et plus particulièrement Erwann Fraboulet (directeur de la recherche et développement) pour le temps qu'il m'a alloué ainsi que les connaissances qu'il m'a transmises.

Ensuite, je voudrais remercier le RAQ (Ressources Aquatiques Québec) et la Fondation de l'UQAR (bourse Jinette-Côté) pour leur soutien financier fort appréciable.

D'autre part, je voudrais remercier tout particulièrement ma famille qui m'a soutenue et encouragée dans ma démarche en tous temps.

Pour finir, un grand merci à mes amis et collègues qui ont tous contribué à rendre la réalisation de ce projet et ma vie à Rimouski des plus agréables.

RÉSUMÉ

Les microalgues sont une bioressource des plus prometteuses pour la production de diverses substances, dont plusieurs à valeur ajoutée. Elles sont notamment exploitées (ou utilisées) pour obtenir des produits biopharmaceutiques, des biomatériaux et des biocarburants. Toutefois, malgré l'intérêt, l'état actuel de la technologie n'est pas encore assez mature pour être implantée de façon rentable à l'échelle industrielle. De plus, les implantations actuelles existantes (p.ex. chez NutrOcéan) impliquent encore l'opération manuelle de nombreux aspects de la production. Ces derniers engendrent des coûts de main-d'œuvre importants, sans compter qu'il est souvent fort difficile de trouver et de recruter le personnel spécialisé nécessaire à de telles opérations. D'autre part, les microalgues sont des micro-organismes vivants, et leur utilisation dans le cadre d'un procédé industriel nécessite une certaine maîtrise de leur comportement, ce qui implique l'utilisation de stratégies d'automatisation plus avancées.

La commande et l'optimisation en temps réel des bioprocédés sont reconnues comme étant des avenues à préconiser pour améliorer et stabiliser les conditions environnementales dans lesquelles évoluent les microorganismes (maximise la productivité de tels systèmes). Toutefois, un manque de connaissances en lien avec le bioprocédé à opérer peut venir limiter les possibilités : il devient donc intéressant de développer de nouvelles techniques de contrôle et d'optimisation en temps réel plus sophistiquées, adaptées à cette réalité.

Le présent projet se décompose en trois objectifs principaux. Premièrement, mettre au point un simulateur qui permet de bien représenter le comportement de la culture de *Nannochloropsis oculata* en photobioréacteur. Le second objectif est l'implantation (d'abord en simulation) de la commande extrémale (une technique d'optimisation en temps réel) adaptée à un manque de connaissances précises en lien avec la variable à optimiser. Le réglage des paramètres de l'algorithme sont obtenus en partie en suivant une méthodologie présentée dans Deschênes et St-Onge (2013) et en partie par essais-erreurs avec le procédé modélisé en simulation. Cette information est par la suite utilisée pour l'application de la commande extrémale sur le procédé réel, ce qui constitue le troisième objectif. La situation considérée dans un premier temps est la maximisation du taux de croissance en récolte semi-continue par la modulation du pH de la culture. Dans un deuxième temps, cette même stratégie sera utilisée pour maximiser la productivité du système en mode de production continu, en modulant le taux de dilution (ou indirectement, le débit de récolte). Les deux premiers objectifs sont atteints, tandis que le troisième l'est partiellement : certains tests sur le procédé réel n'ont pu être réalisés avec succès.

Mots clés : [microalgues, photobioréacteur, bioprocédés, contrôle, optimisation en temps réel, commande extrémale, modélisation, simulation, biotechnologies]

ABSTRACT

Microalgae is a most promising bioresource for the production of high valued substances. Among other usages, they are even used to obtain biopharmaceutical products, biomaterials and biofuels.

Despite their numerous advantages, the actual state of technology isn't ready for implementation at the industrial scale, due to cost reasons. Also, actual methods for operating such production systems (e.g. at the NutrOcean company) still requires various manual operations, leading to high labor needs and costs. Furthermore, finding and recruiting the necessary highly specialized personnel is often most difficult. Process automation is an avenue that should be explored to address these issues. However, microalgae are living organisms, and their use in an industrial process implies a good control over their behavior, which requires a higher level of knowledge and specialized automation strategies.

Automation, through a tighter control of the environmental conditions in which the microorganisms evolve, is known to help in maximising the productivity of bioprocesses. Typical lack of knowledge about the biological principles behind system productivity often hinders performances in practice. Thus, it is important to develop and validate new sophisticated control and real-time optimisation techniques adapted to this reality.

This project has three main objectives. The first is to develop a simulator that should predict the behavior of *Nannochloropsis oculata* in photobioreactors. The second is to first implement the extremum seeking control strategy on the simulator. The tuning of the parameters of the extremum seeking control strategy will be partially based on a methodology presented by Deschênes et St-Onge (2013) and a trial-and-error approach using the simulator. These results will then be used for the implementation of the algorithm on the real physical system, which is the third objective. Two different situations will be considered: the first will be the maximisation of the growth rate in semi-continuous mode through pH modulation. The second situation will be the maximization of the system productivity in continuous mode through modulation of the dilution rate (and indirectly the output flow rate from the bioreactor).

Keywords : [microalgae, photobioreactor, control theory, real-time optimization, extremum seeking control, bioprocess, modeling, simulation, biotechnology]

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	VII
RÉSUMÉ	IX
ABSTRACT.....	XI
TABLE DES MATIÈRES.....	XIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIX
LISTE DES FIGURES	XXI
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	XXIX
LISTE DES SYMBOLES.....	XXXI
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
PROBLEMATIQUE	1
OBJECTIFS	2
METHODOLOGIE	3
ORGANISATION DU MEMOIRE	4
CHAPITRE 1 REVUE DE LITTERATURE, PRINCIPES DE BASES DE LA COMMANDE EXTRÉMALE ET LES ENJEUX RELATIFS AU BIOPROCÉDÉ	5
1.1 INTRODUCTION	5
1.2 LA COMMANDE EXTREMALE COMME TECHNIQUE D’OPTIMISATION EN TEMPS- REEL	7
1.3 LA COMMANDE EXTREMALE PAR LA METHODE DES PERTURBATIONS.....	10
1.3.1 LOI EVOLUTIVE.....	10
1.3.2 FONCTIONNEMENT DE L’ALGORITHME (CAS SIMPLIFIE)	10
1.3.3 INDICATEURS DE PERFORMANCES.....	15
1.3.4 REGLAGE DES PARAMETRES DE LA BOUCLE.....	17

<i>Choix de l'onde d'excitation exogène</i>	17
<i>Filtre pré-démodulateur</i>	21
<i>Intégrateur (contrôleur)</i>	23
1.3.5 MODIFICATION DU SCHEMA CLASSIQUE DE LA COMMANDE EXTREMALE PAR LA METHODE DES PERTURBATIONS	24
1.3.6 CONCLUSION SUR L'ETAT DE L'ART DE LA COMMANDE EXTREMALE PAR METHODE DES PERTURBATIONS	27
1.4 LE CONTROLE DE PROCEDE DANS L'INDUSTRIE DES BIOPROCEDES	27
1.4.1 INTRODUCTION	27
1.4.2 PROBLEMATIQUES RELATIVES AU CONTROLE DES BIOPROCEDES	29
1.5 APPLICATIONS DE LA COMMANDE EXTREMALE A L'OPTIMISATION DES BIOPROCEDES.....	30
1.5.1 OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DE BIOMASSE	30
1.5.2 OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DE METABOLITES D'INTERETS	31
<i>Fermenteurs</i>	31
<i>Formation de biogaz</i>	31
1.5.3 COMMANDE EXTREMALE ADAPTATIVE DANS LE DOMAINE DE L'OPTIMISATION DE BIOPROCEDES	32
1.5.4 CONCLUSION SUR LA COMMANDE EXTREMALE PAR LA METHODE DES PERTURBATIONS DANS LE DOMAINE DE L'OPTIMISATION DE BIOPROCEDES	33
1.6 CONCLUSION.....	33
CHAPITRE 2 MONTAGES EXPERIMENTAUX ET ASPECTS CONNEXES OU PREPARATOIRES A L'IMPLANTATION DE LA COMMANDE EXTREMALE.....	35
2.1 INTRODUCTION SUR LA PRODUCTION DE MICROALGUES	35
2.2 ÉTAPES PREPARATOIRES A LA PRODUCTION EN PHOTOBIOREACTEUR	36
2.3 SYSTEME PHYSIQUE.....	38
2.3.1 PHOTOBIOREACTEUR	39
2.3.2 SONDES, CAPTEURS ET TRANSMETTEURS	42
2.3.3 AGITATION PAR BULLAGE D'AIR.....	45

2.3.4 APPAREILS SUPPLEMENTAIRES POUR LA RECOLTE CONTINUE	46
2.3.5 AUTOMATE	47
2.3.6 SYSTEME INFORMATIQUE.....	47
2.3.7 SYSTEME D'APPROVISIONNEMENT EN EAU DE MER.....	49
2.4 APPAREILS DU LABORATOIRE SEC	54
2.4.1 COMPTEUR DE PARTICULES	54
2.4.2 MICROSCOPE.....	55
2.4.3 SONDE A PH DE COMPTOIR.....	55
2.5 MANIPULATIONS ET ECHANTILLONNAGE	56
2.5.1 MANIPULATIONS ET ENTRETIENS	56
2.5.2 ÉCHANTILLONNAGE ET MESURES	58
2.6 IDENTIFICATION DES BOUCLES DE BASE ET REGLAGE DES CONTROLEURS PI.....	60
2.6.1 CONTROLE DU PH.....	60
2.6.2 CONTROLE DU NIVEAU	63
2.6.3 CAPTEUR DE BIOMASSE	65
2.7 CONCLUSION.....	69
CHAPITRE 3 MODELISATION DE LA PRODUCTION DE MICROALGUES.....	71
3.1 INTRODUCTION	71
3.2 CARACTERISTIQUES DES BIOPROCEDES	72
3.2.1 SCHEMATISATION REACTIONNELLE DU PROCEDE.....	72
3.2.2 PHASES DE CROISSANCE D'UNE CULTURE DE MICROORGANISMES AU SEIN D'UN BIOREACTEUR	73
3.2.3 MODELES DE LA DYNAMIQUE DE CROISSANCE DE MICROORGANISMES EN BIOREACTEUR	74
3.3 CULTURE DE MICROALGUES AUTOTROPHES EN PHOTOBIOREACTEUR	89
3.3.1 PARTICULARITES DES MICROALGUES AUTOTROPHES.....	90
3.3.2 PARTICULARITES DES PHOTOBIOREACTEURS CLOS	91
3.3.3 SCHEMATISATION REACTIONNELLE DU PROCEDE.....	92
3.3.4 ÉQUATIONS DE LA DYNAMIQUE DE CROISSANCE EN PHOTOBIOREACTEUR	93
3.4 MODELE DYNAMIQUE POUR NANNOCHELOSIS OCULATA	95

3.4.1 ÉQUATIONS DYNAMIQUES ET TAUX DE CROISSANCE SPECIFIQUES	97
3.5 MISE EN ŒUVRE DU SIMULATEUR ET VALIDATION SOMMAIRE	103
3.6 CONCLUSION	104
CHAPITRE 4 RESULTATS DE L'APPLICATION DE LA COMMANDE	
EXTRÉMALE PAR LA MÉTHODE DES PERTURBATIONS	109
4.1 SIMULATION DE L'OPTIMISATION DU TAUX DE CROISSANCE DES MICROALGUES	
EN FONCTION DU PH	110
4.1.1 EFFETS DU PH	110
4.1.2 CARACTERISATION DU SYSTEME ET CONFIGURATION DE LA STRATEGIE	
D'OPTIMISATION	111
4.1.3 IMPLEMENTATION DE LA COMMANDE EXTREMALE AVEC ONDE SINUSOÏDALE	114
4.1.1 IMPLEMENTATION DE LA COMMANDE EXTREMALE AVEC ONDE CARREE	117
4.2 EXPERIMENTATION DE L'OPTIMISATION DU TAUX DE CROISSANCE DES	
MICROALGUES EN FONCTION DU PH	119
4.2.1 IDENTIFICATION DES DYNAMIQUES DU SYSTEME	119
4.2.2 IMPLANTATION DE L'ALGORITHME DE COMMANDE EXTREMALE DANS	
L'AUTOMATE PROGRAMMABLE	123
4.2.3 RESULTATS EXPERIMENTAUX AVEC L'ONDE DE PERTURBATION SINUSOÏDALE	124
4.2.1 OBSERVATION DE PHENOMENES PARTICULIERS	126
4.3 OPERATION EN MODE CONTINU ET OPTIMISATION DE LA PRODUCTIVITE PAR	
LA COMMANDE EXTREMALE EN SIMULATION	134
4.3.1 MODE D'OPERATION CONTINU ET EFFET DU TAUX DE DILUTION	134
4.3.2 CARACTERISATION DU SYSTEME ET REGLAGE DES BOUCLES DE BASE	135
4.3.3 SIMULATION DE LA COMMANDE EXTREMALE PAR LA METHODE DES	
PERTURBATIONS	137
4.4 RESULTATS EXPERIMENTAUX EN MODE CONTINU	140
4.4.1 IMPLANTATION DE L'ALGORITHME DE COMMANDE EXTREMALE DANS	
L'AUTOMATE PROGRAMMABLE	142
4.5 CONCLUSION	152
CONCLUSION GÉNÉRALE	155

ANNEXE I PROCEDURE POUR LA CREATION D'UNE TOURIE DE 4L DE NANNOCHLOROPSIS OCULATA, A PARTIR D'UNE SOUCHE DE MICROALGUES	159
ANNEXE II PROCEDURE A SUIVRE POUR LA PREPARATION DE MILIEU DE CULTURE (F/2)	163
ANNEXE III PROCEDURE A SUIVRE POUR LE NETTOYAGE DE LA POMPE	167
ANNEXE V PRODECURE A SUIVRE POUR L'ENTRETIEN DU SYSTEME DE MICROFILTRATION	171
ANNEXE VI PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ENTRETIEN DU SYSTEME D'ULTRAFILTRATION	173
ANNEXE VII PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ENTRETIEN DU COMPTEUR DE PARTICULES.....	175
ANNEXE VIII PROCEDURE A SUIVRE POUR LA RECOLTE ET LE REPLISSAGE D'UN PHOTOBIOREACTEUR EN RECOLTE SEMI- CONTINUE.....	177
ANNEXE IX PROCEDURE D'ECHANTILLONNAGE ET DE NETTOYAGE À SUIVRE POUR LES CONTENANTS DE STOCKAGES DE RECOLTE (PHOTOBIOREACTEUR OPERE EN RECOLTE CONTINUE)	181
ANNEXE X PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ECHANTILLONNAGE DANS LE LABORATOIRE B010 DANS LE CAS DE LA RECOLTE EN SEMI- CONTINUE	183
ANNEXE XIV COEFFICIENTS DU MODELE DYNAMIQUE (SIMULATEUR) ..	193
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	195

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Dimensions du photobioréacteur en cm.....	44
Tableau 2 : Conditions initiales et d'opération pour la simulation d'optimisation du taux de croissance en fonction du pH.....	116
Tableau 3 : Réglage #2 des paramètres de la commande extrême.....	119

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Commande extrême implémentée sur un procédé quadratique et monoparamétré	11
Figure 2 : Commande extrême sur un procédé non-linéaire monoparamétré.....	18
Figure 3 : Système non-linéaire avec commande extrême, sans filtre passe-haut (Tan et al. 2008)	19
Figure 4 : Commande extrême par la méthode des perturbations avec compensation de phase (image intégralement utilisée, source: Chioua 2008)	25
Figure 5 : Les quatre grandes étapes préparatoires à la culture de microalgues en photobioréacteur	37
Figure 6 : Photobioréacteur avec fluorescents T5HO.....	40
Figure 7 : Sonde à pH insérée dans son « housing » puis dans le photobioréacteur	40
Figure 8 : a) Vanne d'échappement/remplissage, b) sortie récolte de la biomasse en continu et c) l'entrée d'air et du dioxyde de carbone.....	41
Figure 9 : Couvercle de photobioréacteur prêt pour une opération en mode continu, avec capteur LUV104 d'Omega.....	41
Figure 10 : Dimensions du photobioréacteur.....	43
Figure 11 : a) transmetteur de pH pour le PBR _{EX1} b) transmetteur de pH pour le PBR _{EX2} et c) contrôleurs de flux de CO ₂	44
Figure 12 : Capteur de biomasse.....	44
Figure 13 : Pompes péristaltiques modèle 77521 de Masterflex	47

Figure 14 : Vue d'ensemble de l'automate Compact Logix L32E d'Allen-Bradley	48
Figure 15 : Exemple de détails d'un bloc	48
Figure 16 : Configuration du système d'approvisionnement en eau de mer pour la récolte en semi-continu.....	49
Figure 17 : Configuration du système d'approvisionnement en eau de mer pour la récolte en continu.....	50
Figure 18 : Boîtier convertible pour filtre.....	51
Figure 19 : Montage en série des deux boîtiers	51
Figure 20 : Fonctionnement d'une membrane à fibre creuse	52
Figure 21 : Microfiltration et ultrafiltration d'eau de mer	53
Figure 22 : Pompe centrifuge à entraînement magnétique (image provenant du manuel d'utilisateur de celle-ci)	53
Figure 23 : « Z2 Coulter Particle Counter and Size Analyser »	54
Figure 24 : Sonde à pH de comptoir	55
Figure 25 : Identification de la fonction de transfert du pH, à une concentration cellulaire de $10 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$ (la variable manipulée u1 est la commande de CO_2).....	61
Figure 26 : Validation de la fonction de transfert du pH (la variable manipulée u1 est la commande de CO_2)	62
Figure 27 : PH en boucle fermée, à une concentration cellulaire de $10 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$	63
Figure 28 : Couvercle de PBR_{EXI} en récolte continu.....	64
Figure 29 : Régulation du niveau de la culture (cas des deux pompes péristaltiques indépendantes)	66
Figure 30 : Capteur de biomasse.....	66

Figure 31: Récolte de la biomasse en boucle ouverte.....	68
Figure 32 : Performance de la récolte en continu (deux pompes péristaltiques)	68
Figure 33 : Performance de la récolte en continu (pompe péristaltique à deux têtes)	69
Figure 34 : Courbe typique de croissance d'une population de microorganismes (Shuler et Kargi 2002)	74
Figure 35: Bioréacteur avec flexibilité d'opération	76
Figure 36 : Dépendance de la formation de produit, (1) entièrement, (2) partiellement et (3) indépendante.	82
Figure 37 : Exemple de tracé pour un modèle de Monod	84
Figure 38 : Exemple de courbe du modèle Contois, avec $K_C = 0,04$	86
Figure 39: Exemple de courbe du modèle Haldane	86
Figure 40: Exemple de modèle Rozzi, avec un pH optimal de 7	87
Figure 41 : Exemple modèle pour l'influence de la température, avec $\Gamma_1 = 65,3$ K et $\Gamma_2 = 76,3$ K.....	87
Figure 42 : <i>Nannochloropsis oculata</i>	90
Figure 43 : Modèle du taux de croissance spécifique en fonction de la concentration en oxygène dissout.....	99
Figure 44 : Exemples de modèle de taux de croissance spécifique en fonction du pH	102
Figure 45 : Modèle du taux de croissance spécifique en fonction de l'intensité lumineuse, pour différentes concentrations cellulaires	102
Figure 46 : Fenêtre principale du simulateur de culture de <i>Nannochloropsis Oculata</i> (avec boucles de contrôle actives sur le pH, le volume et la concentration en biomasse)	106

Figure 47: Comparaison entre le comportement du modèle non-linéaire pour l'oxygène dissout et la culture en réponse à un échelon sur le débit de bullage d'air (deux concentrations cellulaires)	106
Figure 48: Comparaisons entre les données expérimentales sur le pH et la biomasse et le modèle ajusté	107
Figure 49 : Courbes de croissance simulée VS obtenues du système réel.....	107
Figure 50 : Commande extrémale appliquée au système (schéma-blocs)	112
Figure 51 : Comparaison entre les dynamiques du pH de la culture et du modèle $H(s)$	113
Figure 52 : Comparaison entre les dynamiques du pH de la culture et du modèle $H(s)$	114
Figure 53 : Commande extrémale appliquée au système.....	115
Figure 54 : Détails de «Commande extrémale par méthode des perturbations»	115
Figure 55 : Convergence du pH vers sa valeur optimale et commande de débit de bullage de CO_2 (avec onde de perturbation sinusoïde)	117
Figure 56 : Réponses de la biomasse et de la variable à optimiser (avec onde de perturbation sinusoïde)	118
Figure 57 : Convergence du pH vers sa valeur optimale et commande de débit de bullage de CO_2 (avec onde de perturbation carrée).....	120
Figure 58 : Réponses de la biomasse et de la variable à optimiser (avec onde de perturbation carrée)	121
Figure 59 : Vérification du modèle $H(s)$ avec données du système réel	122
Figure 60 : Modèle Hammerstein (1) et modèle Wiener (2)	123
Figure 61 : Schéma-blocs de la consigne sinusoïde.....	124

Figure 62 : Schématisation de l'algorithme de commande extrémale avec filtre passe-bande	125
Figure 63 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 1)	127
Figure 64 : Sortie à optimiser, taux de croissance mesuré en fonction du temps (résultat # 1)	127
Figure 65 : Consigne et valeur mesurée du pH en fonction du temps (résultat # 1)	128
Figure 66 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 2)	128
Figure 67 : Sortie à optimiser, taux de croissance mesuré en fonction du temps (résultat # 2)	129
Figure 68 : Consigne et valeur mesurée du pH en fonction du temps (résultat # 2)	129
Figure 69 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 3)	130
Figure 70 : Sortie à optimiser, taux de croissance en fonction du temps (résultat # 3)	130
Figure 71 : Consigne et valeur mesurée du pH en fonction du temps (résultat # 3)	131
Figure 72 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 4)	131
Figure 73 : Sortie à optimiser, taux de croissance en fonction du temps (résultat #4)	132
Figure 74 : Convergence du pH vers valeur en dessous de 7 (résultat #4)	132
Figure 75 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 5)	133
Figure 76 : Sortie à optimiser, taux de croissance en fonction du temps (résultat #5)	133
Figure 77 : Convergence du pH vers valeur en dessous de 7 (essai #5)	134
Figure 78 : Commande extrémale appliquée au système (schéma-blocs)	137
Figure 79 : Comparaison entre les dynamiques de la concentration cellulaire de la culture et du modèle $H(s)$	138

Figure 80 : Comparaison entre les dynamiques de la concentration cellulaire de la culture et du modèle $H(s)$	138
Figure 81 : Commande extrémale appliquée en simulation.....	139
Figure 82 : Convergence de la concentration cellulaire en mode continu (avec période de 80h)	140
Figure 83 : Convergence de la productivité du système en mode continu (avec période de 80 h)	141
Figure 84 : Vérification du modèle $H(s)$ (dynamique de 0,5 h) avec données du système réel, échelons de 5 Mcell·mL ⁻¹ (exemple #1)	144
Figure 85 : Vérification du modèle $H(s)$ (dynamique 0,5 h) avec données du système réel, amplitude de 3 Mcell·mL ⁻¹ (exemple #2)	145
Figure 86 : Problème de lecture de la concentration cellulaire causé par le manque d'eau de mer (F/2)	147
Figure 87 : Baisse subite du niveau dans le photobioréacteur causé par un manque d'eau de mer (F/2)	148
Figure 88 : Expérience d'une durée de 6 jours qui a pris fin à cause d'une contamination par des ciliés.....	148
Figure 89 : Cycle de vie d'une spore parasite <i>Chytridium</i> (cilié) dans <i>Scenedesmus</i> (microalgue): (1) zoospore accroché sur la paroi cellulaire, (2) croissance de <i>Chytridium</i> à partir d'haustorium, lyse le cytoplasme de l'algue (3) <i>Chytridium</i> mature, (4) libération de zoospores.....	149
Figure 90 : Cycle de vie d'une spore parasite <i>Aphelidium</i> (cilié) dans <i>Scenedesmus</i> (microalgue): (1) zoospore accrochée sur la paroi cellulaire, (2) croissance de <i>Aphelidium</i> , phagocyte le cytoplasme de l'algue (3) multiplication par mitose, (4) libération de zoospores	149

Figure 91 : Changement brusque dans le parcours de la sortie de l'intégrateur	150
Figure 92 : Changement brusque dans le parcours de la sortie de l'intégrateur	150
Figure 93 : Difficulté de réguler la concentration cellulaire à sa consigne en raison d'une augmentation soudaine du bullage d'air	150
Figure 94 : Changement brusque dans le parcours de la sortie de l'intégrateur causé par l'augmentation soudaine du bullage d'air	151
Figure 95 : Comparaison des signaux de sortie du filtre passe-bas et du filtre passe-bande (domaine temporel).....	151
Figure 96 : Fissures sur un cylindre.....	152
Figure 97 : Fiole de 250 à 500mL avec bouchon de caoutchouc.....	160
Figure 98 : Tourie de 4L avec bouchon de caoutchouc	161
Figure 99: Procédure.....	162
Figure 100 : Système microfiltration	163
Figure 101 : Système ultrafiltration	164
Figure 102 : Vannes à la sortie du bassin #1	165
Figure 103 : Vannes à la sortie du filtre PEPPA.....	165
Figure 104 : Boucle fermée.....	167
Figure 105 : Récolte.....	178
Figure 106 : Rinçage de la pompe	178
Figure 107 : Remplissage.....	179
Figure 108 : Contenant de stockage.....	185
Figure 109 : Tuyau de récolte	186

Figure 110 : Échantillonnage du récipient de stockage	186
Figure 111 : « Coulter counter »	187
Figure 112 : Isoton II	188
Figure 113 : Plateau de la machine	188
Figure 114 : Échantillons	189
Figure 115 : Préparation des gobelets	189
Figure 116 : Sonde à pH	191

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

DC	direct current (courant continu), terme souvent utilisé pour désigner la valeur « moyenne » (fréquence nulle) d'un signal à un moment donné dans le temps
DO	dissolved oxygen (oxygène dissout)
FBD	« function bloc diagram »
FPE	erreur de prédiction finale
P	contrôleur proportionnel
PD	contrôleur proportionnel et dérivateur
PHQ	personnel hautement qualifié
PI	contrôleur proportionnel et intégral
PID	contrôleur proportionnel, intégral et dérivateur

XXX

LISTE DES SYMBOLES

a	amplitude de l'onde d'excitation exogène
B	bande passante ($\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$)
$[\text{CO}_2]$	concentration de dioxyde de carbone dissous ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{CO}_2]_c$	concentration de saturation de dioxyde de carbone ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
CT	concentration totale de carbone ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
D	taux de dilution (unité de temps $^{-1}$)
$d(t)$	onde d'excitation exogène
$D_{bulletot}$	débit de gaz entrant total (unité de temps $^{-1}$)
$[DO]$	concentration d'oxygène dissous (% d'air saturé)
DO_0	concentration d'oxygène dissous initiale (% d'air saturé)
$[DO]_c$	concentration de saturation d'oxygène (% d'air saturé)
D_T	diamètre du tube du photobioréacteur (cm)
E_1	énergie d'activation d'Arrhenius minimale ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$)
E_2	énergie d'activation d'Arrhenius maximale ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$)
f^*	sortie optimale
$F(s)$	fonction de transfert du système
F_{in}	débit entrant (unité de volume·unité de temps $^{-1}$)

F_{out}	débit sortant (unité de volume·unité de temps ⁻¹)
$G_c(s)$	fonction de transfert d'un contrôleur
$G_{pD}(s)$	fonction de transfert de $\frac{D}{u}$
$G_{pH}(s)$	fonction de transfert de $\frac{pH}{u}$
$G_{pX}(s)$	fonction de transfert de $\frac{X}{D}$
$H(s)$	fonction de transfert en boucle fermée
H_B	hauteur de la base du photobioréacteur (cm)
H_C	hauteur du couvercle du photobioréacteur (cm)
H_L	hauteur de l'éclairage des photobioréacteur (cm)
H_T	hauteur du tube du photobioréacteur (cm)
I	intensité lumineuse ($\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
IC	inhibiteurs de croissance microbienne (unité de masse/unité de volume)
I_{max}	intensité lumineuse maximale ($\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
J	fonction objective du problème d'optimisation
k	gain de l'intégrateur
K_1	constante cinétique ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
K_2	constante cinétique ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
K_C	constante de Contois ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

K_c	gain du contrôleur (unité de la sortie·unité de l'entrée ⁻¹)
$K_{CO_2,0}$	constante associée aux dynamiques des échanges de masse gazeuse et la consommation de dioxyde de carbone associée à la croissance (mmol·Mcell ⁻¹)
$K_{CO_2,1}$	constante associée aux dynamiques des échanges de masse gazeuse et la consommation de dioxyde de carbone associée à la croissance (sans unité)
K_{DO0}	constante associée aux dynamiques des échanges de masse gazeuse et la production d'oxygène associée à la croissance d'algues (voir l'équation pour les unités)
K_{DO1}	constante associée aux dynamiques des échanges de masse gazeuse et la production d'oxygène associée à la croissance d'algues (voir l'équation pour les unités)
K_{DO2}	paramètre d'inhibition de l'oxygène dissous ((% d'air saturé) ⁻⁸)
K_{II}	paramètre d'inhibition (mol·L ⁻¹)
K_{I0}	constante du taux de croissance associé à l'intensité lumineuse
K_{I1}	constante du taux de croissance associé à l'intensité lumineuse (voir (69) pour les unités)
K_{I2}	constante du taux de croissance associé à l'intensité lumineuse (s ² ·m ⁴ ·μ ⁻¹ ·E ⁻²)
K_{ij}	coefficient de conversion (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
K_{IX}	constante du taux de croissance associé à l'intensité lumineuse et à la concentration cellulaire (Mcells ⁻²)
K_M	constante de Michaelis-Menten (mol·L ⁻¹)

K_{pD}	gain de la fonction de transfert de $\frac{D}{u}$ (unité de la sortie·unité de l'entrée ⁻¹)
K_{pH0}	constante du taux de croissance associé au pH
K_{pH1}	constante du taux de croissance associé au pH
K_{pH2}	constante du taux de croissance associé au pH ((unité de pH) ⁻²)
K_{ppH}	gain de la fonction de transfert de $\frac{pH}{u}$ (unité de la sortie·unité de l'entrée ⁻¹)
K_{pX}	gain de la fonction de transfert de $\frac{X}{D}$ (Mcell·h·mL ⁻¹)
k_s	coefficient de rendement de la consommation du substrat par la biomasse
K_{S0}	constante de proportionnalité du substrat (mmol·Mcell ⁻¹)
K_{SX}	constante de Contois adaptée à l'effet de la concentration cellulaire (mmol·Mcell ⁻¹)
k_v	coefficient de conversion du produit (voir l'équation pour les unités)
L_B	largeur de la base du photobioréacteur (cm)
L_C	largeur du couvercle du photobioréacteur (cm)
m	sortie du filtre pré-démodulateur
m_{pB}	sortie du filtre passe-bande (voir l'équation pour les unités)
P	produit issu d'une réaction métabolique des cellules (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
P_B	profondeur de la base du photobioréacteur (cm)
P_C	profondeur du couvercle du photobioréacteur (cm)

P_d	puissance normalisée de l'onde d'excitation exogène (W)
pH_0	pH initial (unités de pH)
pH_{\max}	pH optimal (unité de pH)
pH_{moyen}	pH moyen (unité de pH)
Q	débit de sortie massique du produit sous forme gazeuse (unité de masse·unité de temps ⁻¹)
R	constante universelle des gaz parfaits (J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)
S	substrat (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
S_0	concentration de substrat initiale (mmol·L ⁻¹)
S_{in}	concentration de substrat (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
T	période de l'onde d'excitation exogène (unité de temps)
T_o	constante de temps au numérateur de l'expression de la boucle fermée
T_S	le temps de convergence de l'algorithme (unité de temps)
u	commande
V	volume d'une culture (unité de volume)
$W_H(s)$	filtre passe-haut
$W_L(s)$	filtre passe-bas
X	concentration cellulaire (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
x	vecteur de variables d'états

\hat{X}	sortie de l'intégrateur dans le cas de l'optimisation de la concentration cellulaire ($\text{Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$)
X_0	concentration cellulaire initiale ($\text{Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$)
X_{\max}	concentration cellulaire maximale ($\text{Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$)
y	sortie de la fonction objective
Γ	température (K)
Γ_1	température limite minimale (K)
Γ_2	température limite maximale (K)
δ	gain de l'intégrateur à la fréquence ω (réponse en fréquences)
ζ	taux d'amortissement (sans unité)
θ	variable manipulée à l'entrée de l'algorithme de commande extrémale
$\hat{\theta}$	valeur « moyenne » de la variable manipulée à l'entrée de l'algorithme de commande extrémale (sortie de l'intégrateur utilisé dans l'algorithme)
θ^*	valeur optimale recherchée pour la variable manipulée à l'entrée de l'algorithme de commande extrémale
$\tilde{\theta}$	différence (erreur) entre la valeur moyenne actuelle $\hat{\theta}$ et la valeur optimale θ^* de la variable manipulée en entrée de l'algorithme de commande extrémale
\mathcal{G}	variable d'influence quelconque (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
\mathcal{G}_m	concentration de substance en entrée (unité de masse·unité de volume ⁻¹)
μ	taux de croissance microbienne ($1 \cdot \text{unité de temps}^{-1}$)

μ_{\max}	taux de croissance maximal ($l \cdot \text{unité de temps}^{-1}$)
μ_{moyen}	taux de croissance moyen ($l \cdot h^{-1}$)
ν	l'écart net maximal à l'optimum (sur une période) en régime permanent sur la sortie (unité de la variable de sortie sur laquelle est appliquée la commande extrémale)
ξ	signal démodulé
ρ	taux de production spécifique non associé au taux de production μ (unité de temps $^{-1}$)
τ	dynamique naturelle du système (unité de temps)
τ_i	constante de temps du contrôleur (unité de temps)
τ_{pH}	constante de temps de la fonction de transfert de $\frac{pH}{u}$ (unité de temps)
τ_{pX}	constante de temps de la fonction de transfert de $\frac{X}{D}$ (unité de temps)
ν	taux de production spécifique (unité de temps $^{-1}$)
ϕ	déphasage (rad)
$\hat{\phi}$	déphasage introduit par un bloc déphaseur (rad)
φ_j	taux de réaction (unité de temps $^{-1}$)
ω	fréquence propre de l'onde d'excitation exogène (rad·unité de temps $^{-1}$)
ω_h	fréquence de coupure d'un filtre passe-haut (rad·unité de temps $^{-1}$)
ω_o	fréquence centrale filtre passe-bande (rad·s $^{-1}$)

\mathcal{D} domaine de convergence (unités de θ)

$P(s)$ relation dynamique entre le pH et le taux de production μ

INTRODUCTION GÉNÉRALE

PROBLÉMATIQUE

Les microalgues sont une bioressource des plus prometteuses pour la production de substances à (parfois haute) valeur ajoutée. Elles sont notamment utilisées pour obtenir des produits biopharmaceutiques, des biomatériaux et du biocarburant (Apt et Behrens 1999). En effet, elles sont riches en biomolécules d'intérêts, particulièrement en lipides (souvent à plus de 70% de leur poids sec (Mata et al. 2010; Amaro et al. 2011)). De plus, leur habileté à assimiler le CO₂, comme les plantes, place la culture de microalgues en tête d'une liste de moyens pour remédier aux émissions de gaz à effet de serre (Bernard 2010; Amaro et al. 2011; Chen et al. 2011).

Toutefois, malgré tous ces incitatifs, l'état actuel de la technologie n'est pas assez mature pour être implantée de façon rentable à grande échelle industrielle. De plus, les implantations actuelles chez NutrOcéan impliquent encore l'opération manuelle de nombreux aspects de la production (ex. : bullage, réglage du pH et récolte). Cela implique des coûts de main-d'œuvre importants, sans compter la difficulté de recruter la main-d'œuvre spécialisée additionnelle que pourra éprouver l'entreprise à mesure qu'elle souhaitera accroître sa capacité de production. De plus, la culture de microalgues implique par définition l'utilisation de micro-organismes vivants, dont la maîtrise du comportement nécessite un plus haut degré de connaissances et d'automatisation, qui autrement demeure difficile à appréhender (Dochain 2008).

Afin de réduire les coûts associés à la production, l'automatisation et le contrôle à un niveau optimal des paramètres d'un bioprocédé sont reconnus comme étant l'avenue à préconiser (Dochain 2008; Briassoulis et al. 2010). Un contrôle plus serré des conditions de croissance permet donc de maintenir en tout temps une productivité plus élevée. Toutefois, dû à un manque de connaissances encore fréquent sur différents aspects des bioprocédés, certaines valeurs optimales demeurent inconnues: il est donc intéressant de développer et de

valider des stratégies de contrôle et d'optimisation en temps réel plus sophistiquées (Wang et al. 1999; Dochain 2008), qui permettront d'atteindre ces niveaux d'opération optimaux sans nécessairement requérir les connaissances phénoménologiques précises derrière ces comportements.

OBJECTIFS

Le présent projet se décompose en trois objectifs principaux. Premièrement, mettre au point un simulateur qui permet de bien représenter le comportement de la culture des microalgues (*Nannochloropsis Oculata*) peu importe le mode de récolte (ex. : semi-continue, continue, etc.). Celui-ci est basé sur l'analyse et la compréhension des phénomènes physiques présents dans la culture de microorganismes, la modélisation (mise en équations) en tant que telle, et enfin la récolte de données pour la validation du modèle.

Le second objectif est l'implantation de la commande extrémale (« Extremum seeking control ») mentionnée plus tôt, d'abord en simulation. Les paramètres de l'algorithme sont obtenus en partie en suivant la méthodologie présentée dans Deschênes et St-Onge (2012) et en partie sur l'analyse du comportement du procédé (identification des dynamiques) en simulation. Cette information est par la suite utilisée pour l'application de la commande extrémale sur le procédé réel. La situation considérée dans une première partie est la maximisation du taux de croissance en récolte semi-continue (« batch ») par la modulation du pH de la culture. La valeur optimale du pH ainsi déterminée est dans l'optique d'être utilisée de manière constante.

Le troisième objectif est l'implantation de la commande extrémale pour maximiser la productivité (produit du débit de récolte et de la concentration cellulaire dans le photobioréacteur) en temps réel en mode de production continu. Cette partie est réalisée uniquement en simulation, en raison de contraintes physiques étant apparues en cours de projet.

MÉTHODOLOGIE

Le projet s'intitule : «Optimisation en temps réel de la production de microalgues en photobioréacteur par la commande extrémale». Il est réalisé au sein du département de mathématiques, d'informatique et de génie de l'Université du Québec à Rimouski (UQAR) sous la supervision de Jean-Sébastien Deschênes (CHU, UQAR), professeur et chercheur du même département. Le Dr. Réjean Tremblay, responsable de la chaire de recherche du Canada en aquaculture (CHU, ISMER-UQAR) est également étroitement lié au projet, et agit en tant que codirecteur. Enfin, le projet est réalisé en collaboration avec NutrOcéan inc., une entreprise aquacole fondée à Rimouski suite aux travaux de M. Réal Fournier, concepteur de la chaîne originale de production de microalgues, et ancien agent de recherche de l'ISMER (Station aquicole). De plus, la collaboration avec NutrOcéan inc. a été possible grâce à l'appui de M. Serge Bujold, président et directeur général, et de M. Erwann Fraboulet, directeur de la recherche et développement.

Dans le cadre de ce projet, les expériences sont réalisées, d'une part, sur un bioréacteur exposé à un système d'illumination (photobioréacteur), dans lequel croissent les microorganismes (ce qui constitue le bioprocédé). D'autre part, un automate permet de contrôler différents paramètres opérationnels (biologiques, chimiques et physiques) dans le but de maximiser la croissance, donc la productivité, de la culture. Il assure notamment le maintien du pH à un niveau optimal pour la croissance et permet de gérer l'ajout de nutriment et la vidange des métabolites toxiques ou inhibiteurs de croissance pour la culture lorsque celle-ci est opérée en mode continu.

En parallèle, des algorithmes d'optimisation en temps-réel sont mis en place. Leur objectif est de déterminer automatiquement la séquence de commandes à appliquer au système pour que sa sortie atteigne le niveau d'opération optimal. En d'autres mots, ces algorithmes permettent de maximiser la productivité des systèmes (atteinte d'un « extremum ») par rapport à un ou plusieurs paramètres considérés. Dans un premier temps, le pH (seul) de la culture est le paramètre considéré (en récolte semi-continue ou « batch ») sur la croissance, et dans un deuxième temps, le taux de dilution de la culture (en mode continu) est le paramètre considéré versus la réelle productivité du système (produit de la

concentration en microalgues et de ce même débit de dilution). Afin d'appuyer le développement des algorithmes et d'en pré-valider les performances théoriques, ces derniers sont testés en simulation sous «MATLAB» («Simulink») avec un modèle mathématique dynamique assez représentatif du procédé réel.

ORGANISATION DU MÉMOIRE

Ce mémoire est composé de six chapitres. Le premier chapitre est une introduction au mémoire en présentant la problématique visée liée à l'optimisation de la production de microalgues en photobioréacteurs, ainsi que les objectifs qui s'y attachent.

Le deuxième chapitre présente l'état de l'art de la commande extrémale par méthode des perturbations en commençant par ses fondements théoriques, ses différentes applications notamment dans le domaine des bioprocédés.

Le troisième chapitre présente tous les aspects techniques mis en œuvre pour la réalisation des expériences sur des photobioréacteurs préindustriels.

Le quatrième chapitre présente la modélisation mathématique des bioprocédés dans le but de présenter le simulateur développé dans le cadre de ce projet : croissance de *Nannochloropsis oculata* en photobioréacteur. Les réglages de l'algorithme d'optimisation ont été obtenus en se basant sur ce dernier.

Le cinquième chapitre présente les résultats des expériences. La première partie des expériences traitait de l'optimisation de la production type « batch » en modulant le pH, et la deuxième partie traitait sur l'optimisation de la production de type continu en modulant la concentration cellulaire.

Le chapitre 6 présente la conclusion générale du mémoire, ainsi que la projection du travail qu'il contient.

CHAPITRE 1

REVUE DE LITTÉRATURE, PRINCIPES DE BASES DE LA COMMANDE EXTRÊMALE ET LES ENJEUX RELATIFS AU BIOPROCÉDÉ

1.1 INTRODUCTION

Au Canada, les industries de transformation de la matière font face à des exigences de plus en plus complexes. La compétitivité globale plus forte, le marché économique en pleine effervescence sans oublier des réglementations environnementales et sécuritaires de plus en plus strictes sont autant des facteurs qui influencent fortement la gestion de leurs systèmes de production (Seborg et al. 2004).

Le contrôle de procédés, qui permet de maintenir les conditions d'opérations désirées de façon sécuritaire et efficace, prend de l'ampleur dans les industries. En effet, plusieurs facteurs, dont la baisse des coûts des appareils numériques (capteurs, automates programmables, etc.), améliorent l'accessibilité à la prise de mesures en temps réel et permettent la mise en place de systèmes automatisés à la pointe de la technologie (Seborg et al. 2004). La maîtrise de la théorie du contrôle devient donc un atout essentiel pour les ingénieurs.

Au sens large, l'objectif du contrôle de procédés est de garder la valeur de variables près de la valeur désirée, qu'on appelle consigne, en dépit des perturbations et des variations à l'égard des cinétiques du procédé. Une boucle de rétroaction inclut successivement le système de production, des capteurs et des appareils de mesures, un ordinateur (automate) et un actionneur. Un algorithme de contrôle implémenté dans l'ordinateur envoie, à chaque instant, la commande à l'actionneur à partir de l'information récupérée par les capteurs.

Alors, un ingénieur en contrôle/commande doit être à l'aise avec le réglage d'algorithmes de base ou les techniques d'optimisation en temps réel. Dans cette revue de littérature, l'emphasis est portée sur une technique d'optimisation en temps réel de type «

contrôle adaptatif »: la commande extrémale par la méthode des perturbations (« extremum seeking control »).

Les techniques d'optimisation en temps réel visent à améliorer itérativement les performances d'un système à partir de mesures en temps-réel de différentes variables d'états. Chachuat et al. (2009) et Dewasme et al. (2011) donnent un bon aperçu de ces techniques qui se divisent en trois groupes :

- adaptation des paramètres du modèle (Srinivasan et Bonvin 2002) : l'optimisation se fait à la suite de l'identification du procédé,
- adaptation modificatrice (Marchetti et al. 2009) : la fonction objective et les contraintes sont adaptées de sorte que leurs gradients soient identiques à ceux du système,
- adaptation entrée directe (Skogestad 2000; Ariyur et Krstić 2003; Titica et al. 2003b) : l'optimisation du procédé est approchée comme un problème de contrôle à rétroaction.

La commande extrémale fait partie du troisième groupe. Deux types de cette technique d'optimisation sont reconnus dans la littérature : (1) la méthode des perturbations (Ariyur et Krstić 2003) et (2) la méthode des modèles (Guay et al. 2002). Cette revue de littérature est surtout consacrée à la première méthode et elle se divise en deux parties :

- les avancées récentes dans la théorie de la commande extrémale par la méthode des perturbations,
- l'application de la commande extrémale par la méthode des perturbations dans le domaine de l'optimisation des bioprocédés.

La section sur les avancées est précédée par une brève mise en contexte du rôle de la commande extrémale au sein des techniques de contrôle d'optimisation en temps réel.

1.2 LA COMMANDE EXTRÉMALE COMME TECHNIQUE D'OPTIMISATION EN TEMPS-RÉEL

Les techniques d'optimisation en temps réel des procédés, qui comprennent le contrôle adaptatif, représentent des opportunités considérables pour les industries. Le rendement d'un système opéré à son point optimal se voit maximisé et permet de réduire les coûts d'opérations. En effet, l'optimisation automatique des systèmes permet généralement une meilleure productivité, une précision supérieure et en conséquence une plus grande qualité des produits que lorsque ceux-ci sont opérés « manuellement » par des interventions humaines. De plus, l'opération automatique des procédés implique également une économie de coûts sur la main-d'œuvre, permettant à certaines industries de demeurer au Canada plutôt que de devoir déménager dans des pays émergents où le coût de la main-d'œuvre est faible, afin de demeurer compétitifs.

En général, les méthodes courantes de contrôle adaptatif des systèmes linéaires (Goodwin et Sin 1984; Astrom et Wittenmark 1995; Ioannou et Sun 1995) et non-linéaires (Krstić et al. 1995) sont seulement applicables lorsque le lieu de l'optimum est connu (Krstić et Wang 2000; Ariyur et Krstić 2003). Dans les cas où les dynamiques des systèmes sont mal connues, fortement non-linéaires ou non stationnaires, le point d'opération optimal désiré est donc inconnu ou laborieux à déterminer. L'absence d'appareils fiables pour la prise de données en temps réels rend difficile le contrôle du procédé, notamment dans le cas des bioprocédés (Bastin et Dochain 1990).

En d'autres termes, le manque d'informations sur les relations entrées-sorties d'un système limite le développement de modèles dynamiques fiables et par le fait même, limite les possibilités d'implémentation de techniques de contrôle efficaces. Au niveau des systèmes industriels, cette incertitude dans la relation entrée-sortie oblige à utiliser une adaptation quelconque permettant de déterminer la consigne qui maximisera la sortie, qui est directement en lien avec l'amélioration du fonctionnement de l'usine. Ce problème, appelé « contrôle extrémal », intéressait beaucoup les chercheurs dans les années 1950-1960 (optimisation de système (Drapper et Li 1951, Wilde 1964); cybernétique (Tsien 1954); régulation extrémale (Ostrovskii 1957, Blackman 1962); performance de la commande extrémale appliquée à des procédés instables (Kazakevich 1960); performance de la

commande extrême en présence de bruit aléatoire (Pervozvanskii 1960); système d'auto-optimisation (Krasovskii 1963); commande extrême appliqué à un système comportant une chaudière à gaz (Frey et al. 1966); conception d'une onde de perturbation sinusoïde dans la boucle de la commande extrême (Jacobs et Shering 1968)). À l'origine, la commande extrême est la première méthode de « contrôle adaptatif », apparue en 1922 grâce aux travaux de Leblanc (1922). Ariyur et Krstić (2003) mentionnent qu'au cours des années 60, la commande extrême s'est ensuite divisée en deux branches d'expertises. D'une part, l'émergence des ordinateurs dirigea les efforts sur l'optimisation en temps réel vers des algorithmes d'optimisation généraux. D'autre part, la distinction entre les objectifs de stabilisation et d'optimisation pour le contrôle adaptatif a pris forme. Les performances et la stabilité de la première catégorie sont démontrées par Parks (1966) à l'aide des outils analytiques de Lyapunov.

Vingt ans plus tard, des contributions de Sterby (1980) et Astrom et Wittenmark (1995) vantent les bienfaits et les avantages de la deuxième catégorie dans le domaine du contrôle adaptatif. Krstić et Wang (2000) s'en inspirent pour rédiger la première analyse de stabilité rigoureuse et la preuve formelle de convergence de la commande extrême par la méthode des perturbations. Cette publication éveille ensuite l'intérêt pour cette stratégie d'optimisation et stimule de nombreuses recherches portant autant sur la synthèse de méthodes originales que sur leurs applications (Chioua 2008).

En effet, la commande extrême est applicable à de nombreux systèmes, en voici quelques exemples : les bioréacteurs (Wang et al. 1999; Zhang et al. 2003), la machine à exercices (Zhang et al. 2006), le moteur à allumage par compression de mélange homogène (Killingsworth et al. 2007; Killingsworth et al. 2009), éolienne (Creaby et al. 2009), véhicule non-holonome (Krstić et Cochran 2008), économiseur (Li et al. 2009), refroidisseur (Li et al. 2005), véhicule automatisé (Zhang et al. 2007), vanne électromécanique (Peterson et Stefanopoulou 2004), contrôleur PID (Killingsworth et Krstić 2006), eaux usées (Martinez 2007), dispositif de frein antiblocage (Ariyur et Krstić 2003), capteurs images et vidéos (Zhang et al. 2011) et cartes de saillances (Zhang et al. 2011). Les connaissances nécessaires se rattachant au modèle dynamique de ces systèmes sont limitées, d'où l'intérêt de la méthode.

Des progrès récents dans le domaine ont ravivé l'intérêt pour cette stratégie de contrôle (Krstić et Wang 2000; Tan et al. 2006). En effet, Krstić et Wang (2000) s'inspirent de Sterby (1980), d'Astrom et Wittenmark (1995) et, avec l'aide de la théorie sur les méthodes de « moyennage » dans Merkov (1967), Merkov (1967a) et Merkov (1967b), présentent la première analyse rigoureuse sur la stabilité locale. Autrement dit, une preuve formelle de convergence de la sortie vers l'optimum. Cette contribution stimule la publication de plusieurs travaux portant sur la synthèse de méthodes originales et sur leurs applications (Guay et al. 2002; Ariyur et Krstić 2003; Guay et Zhang 2003; Peterson et Stefanopoulou 2004; Popović et al. 2006). Plus tard, l'analyse de stabilité semi-globale est apportée par Tan et al. (2006).

Toutefois, même si l'analyse de la stabilité des algorithmes d'optimisation en temps réel par commande extrémale peut aujourd'hui être considérée comme un sujet relativement mûr (Ariyur et Krstić 2003), il en est tout autrement en ce qui concerne leurs performances, aspect qui intéresse notamment le praticien en optimisation des procédés industriels (Chioua 2008). En effet, le principal inconvénient de cette méthode est sa faible vitesse de convergence. Cette limitation est liée à une triple séparation des échelles de temps entre (Ariyur et Krstić 2003) :

- la dynamique du système (la plus rapide),
- le signal d'excitation,
- l'estimation du gradient et l'adaptation de commande doit être respectée (la plus lente).

La prochaine section présente une analyse plus approfondie des avancements sur les fondements de la commande extrémale des dernières années. L'objectif est de dresser un portrait global de cette stratégie d'optimisation dans le domaine du contrôle de procédés.

1.3 LA COMMANDE EXTRÉMALE PAR LA MÉTHODE DES PERTURBATIONS

1.3.1 Loi évolutive

Avant d'exposer la méthode dans son ensemble, la loi évolutive de l'algorithme d'optimisation en temps réel est présentée afin de montrer le fondement du fonctionnement de la commande extrémale par la méthode des perturbations.

La loi évolutive est la suivante :

$$\dot{\theta} = -k \cdot \frac{\partial J}{\partial \theta} \quad (1)$$

avec $\theta \in R^m$ vecteur de variable manipulée à l'entrée de l'algorithme de commande extrémale, $J \in R^m \rightarrow R$ où J est la fonction objective du problème d'optimisation et $k \in R$ est le gain de l'intégrateur, lié à la vitesse d'adaptation de θ . Elle a été initialement introduite comme un problème de commande (Leblanc 1922) dont la particularité est que le point de consigne pour l'opération du procédé est à priori inconnu et doit être déterminé par l'algorithme de contrôle. L'idée est d'ajuster itérativement l'entrée θ du système dans le but d'orienter la sortie vers sa valeur optimale. Celle-ci peut être constituée artificiellement par le calcul d'un critère (fonction objective), vers une productivité maximale par exemple.

1.3.2 Fonctionnement de l'algorithme (cas simplifié)

Cette section est tirée essentiellement de Krstić (1998) et Ariyur et Krstić (2003) et présente un portrait simplifié (plan statique) de la commande extrémale par la méthode des perturbations (

Figure 1), ainsi que les idées derrière le développement de la première preuve de convergence (Krstić 1998). Le système pris en considération est quadratique, monoparamétré et présente un maximum f^* .

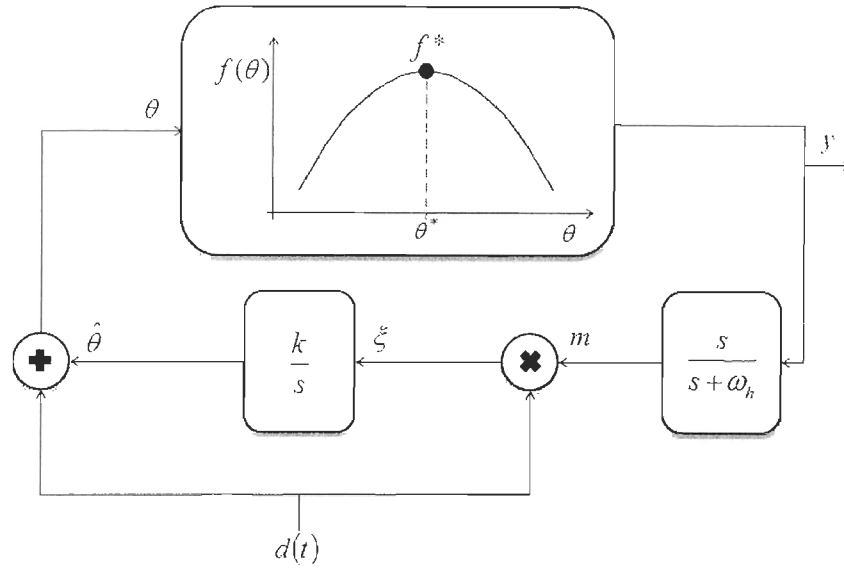


Figure 1 : Commande extrême implémentée sur un procédé quadratique et monoparamétré

Tout d'abord, une onde d'excitation exogène $d(t)$ perturbe le système afin de calculer numériquement le gradient (Blackman 1962; Krstić et Wang 2000). La variable manipulée est représentée par :

$$\theta = \hat{\theta} + d(t) \quad (2)$$

avec $\hat{\theta}$ la valeur « moyenne » de la variable manipulée à l'entrée de l'algorithme de commande extrême (sortie de l'intégrateur utilisé dans l'algorithme). Le signal $d(t)$ doit répondre aux critères suivants (Tan et al. 2008) :

$$\begin{aligned} \int_0^T d(t) dt &= 0 \\ P_d &= \frac{1}{T} \int_0^T d^2(t) dt > 0 \\ \max_{t \in [0, T]} |d(t)| &= a \end{aligned} \quad (3)$$

avec P_d puissance du signal et a l'amplitude du signal. Le rôle de $d(t)$ est de moduler et démoduler le signal, ce qui permet d'extraire l'information relative au gradient. Dans la littérature (Krstić 1998; Wang et al. 1999; Chioua et al. 2007; Deschênes 2012), les moyens

les plus communs pour la démodulation du signal consistent à multiplier $m(t)$ par la même onde de perturbation $d(t)$ utilisée pour exciter le système :

$$d(t) = a \sin(\omega t) \quad (4)$$

avec ω la fréquence angulaire. L'onde d'excitation peut aussi être générée par le contrôle de mode coulissant (« sliding mode control ») (Yaodong et al. 2003; Dochain et al. 2011; Frantsuzova 2011; Fu et Özgüner 2011).

La sortie y est mesurée et :

$$y = J(x, \theta) \quad (5)$$

avec $x \in R^n$ vecteur des variables d'état, $\theta \in R^m$ vecteur des variables manipulées et $J(x, \theta)$ fonction objective avec un extremum. Afin de simplifier l'analyse de la convergence, quelques simplifications sont apportées à $y = J(x, \theta)$: (1) le vecteur variables manipulées devient une seule variable manipulée θ et (2) le vecteur x est retiré :

$$y = J(x, \theta) \Rightarrow f(\theta) \quad (6)$$

On s'attend à ce que $f(\theta)$ ait un extremum à $\theta = \theta^*$. Alors θ^* est la valeur optimale recherchée pour la variable manipulée à l'entrée de l'algorithme de commande extrême. Avec l'approximation de Taylor (Krstić 1998) de (6), on obtient la relation générale suivante :

$$y = f(\theta) = f(\theta^*) + f'(\theta^*)(\theta - \theta^*) + \frac{f''}{2}(\theta - \theta^*)^2 + O((\theta - \theta^*)^3) \quad (7)$$

avec $f'(\theta^*) = 0$ le point optimal de $f(\theta)$. $f'(\theta^*) = 0$, car la dérivée de f égale 0 à l'extremum. Les termes du troisième ordre sont négligeables. Suite à la suppression de ces termes, (7) devient :

$$y = f^* + \frac{f''}{2}(\theta - \theta^*)^2 \quad (8)$$

La différence (erreur d'estimation) entre la valeur moyenne actuelle $\hat{\theta}$ et la valeur optimale θ^* de la variable manipulée en entrée de l'algorithme de commande extrême est :

$$\tilde{\theta} = \theta^* - \hat{\theta} \quad (9)$$

En remplaçant (9) dans (2) :

$$\theta - \theta^* = a \sin(\omega t) - \tilde{\theta} \quad (10)$$

Substitué dans (8):

$$y = f^* + \frac{f''}{2} (\tilde{\theta} - a \sin(\omega t))^2 = f^* + \frac{f''}{2} \tilde{\theta}^2 - af'' \tilde{\theta} \sin(\omega t) + \frac{a^2 f''}{2} \sin^2(\omega t) \quad (11)$$

et en appliquant l'identité trigonométrique suivante :

$$2 \sin^2(\omega t) = 1 - \cos 2(\omega t)$$

On obtient une version plus mathématiquement malléable de la sortie :

$$y = f^* + \frac{a^2 f''}{4} + \frac{f''}{2} \tilde{\theta}^2 - af'' \tilde{\theta} \sin(\omega t) + \frac{a^2 f''}{4} \cos 2(\omega t) \quad (12)$$

Ce signal passe dans le filtre passe-haut pré-démodulateur :

$$\frac{s}{s + \omega_h}$$

avec ω_h la fréquence de coupure. En bref, son utilité est de filtrer les composantes continues (DC) de y (f^*) avant la démodulation. Ce filtrage aide à garder l'amplitude de $\theta(\omega t)$ plus près de l'amplitude du signal $d(\omega t)$ (Ariyur et Krstić 2003; Deschênes et St-Onge 2013). Plus de détails sur le filtre pré-démodulateur sont abordés dans la section 1.3.4. Suite au filtrage (et après « moyennage »), le signal devient (le passage entre le domaine du temps et le domaine de Laplace est allégé par la notation entre crochets ([])) et l'équivalence en

termes « d'égalité » est établie de part et d'autre d'une même équation, comme dans Ariyur et Krstić (2003), pour alléger la démarche dans son ensemble et la notation) :

$$m = \frac{s}{s + \omega_h} [y] \approx \frac{f''}{2} \tilde{\theta}^2 - af''\tilde{\theta} \sin(\omega t) + \frac{a^2 f''}{4} \cos 2(\omega t) \quad (13)$$

Ensuite, ce signal est démodulé par le signal d'excitation exogène et permet d'obtenir le gradient:

$$\xi = m \times a \sin(\omega t) \approx a \frac{f''}{2} \tilde{\theta}^2 \sin(\omega t) - af''\tilde{\theta} \sin^2(\omega t) + \frac{a^3 f''}{4} \cos 2\omega t \sin(\omega t) \quad (14)$$

Afin d'isoler la composante continue (DC), les deux identités trigonométriques suivantes sont utilisées :

$$\begin{aligned} 2 \sin^2(\omega t) &= 1 - \cos 2(\omega t) \\ 2 \cos 2(\omega t) \sin(\omega t) &= \sin 3(\omega t) - \sin(\omega t) \end{aligned}$$

Pour obtenir :

$$\xi \approx -\frac{af''}{2} \tilde{\theta} + \frac{af''}{2} \tilde{\theta} \cos 2(\omega t) - \frac{a^3 f''}{8} (\sin(\omega t) - \sin 3(\omega t)) + a \frac{f''}{2} \tilde{\theta}^2 \sin(\omega t) \quad (15)$$

Le signal passe dans un intégrateur avec un gain k (k est une constante positive lorsque $f'' > 0$ et est une constante négative lorsque $f'' < 0$) qui fait converger le gradient vers zéro :

$$\xi = \frac{\partial J}{\partial \theta} \rightarrow 0 \quad (16)$$

D'ailleurs, l'intégrateur atténue les signaux aux fréquences $\geq \omega$. Pour cette raison, son gain s'écrit sous forme fréquentielle (fréquence fondamentale) :

$$k = \delta \omega \quad (17)$$

avec δ , gain de l'intégrateur à la fréquence ω (réponse en fréquences). Alors, la sortie de l'intégrateur est :

$$\hat{\theta} = \frac{k}{s}[\xi] = \frac{k}{s} \left[-\frac{af''}{2} \tilde{\theta} \right] \quad (18)$$

On peut aussi représenter $\hat{\theta}$ sous forme de dérivée :

$$\dot{\hat{\theta}} = \tilde{\dot{\theta}} = -k \frac{af''}{2} \tilde{\theta} \quad (19)$$

Ce système est stable, car $kf'' > 0$ et donc $\tilde{\theta} \rightarrow 0$.

Alors, grâce à la commande extrémale par la méthode des perturbations, $\hat{\theta}(t)$ converge dans un voisinage autour de θ^* . Toutefois, il faut régler ω relativement grand en rapport à k , a , ω_h et f'' (Ariyur et Krstić 2003).

La présente section avait comme objectif de présenter une version simplifiée de la commande extrémale appliquée sur un procédé afin de démontrer qu'elle permet de faire converger la sortie vers sa valeur optimale à partir d'informations obtenues par une fonction objective disponible en temps réel. Cette stratégie d'optimisation est également applicable sur des systèmes non-linéaires, multivariables et/ou multiparamétrés ainsi qu'en temps discret (Ariyur et Krstić 2003).

Maintenant que les principes de convergence ont été montrés, les indicateurs de performances reconnus dans la littérature pour cet algorithme sont abordés dans la sous-section suivante. Elle est suivie des méthodes de réglages qui permettent d'obtenir les meilleurs résultats (en se basant sur les indicateurs de performances).

1.3.3 Indicateurs de performances

Ces derniers quantifient les différents aspects de la performance de la commande extrémale (Tan et al. 2008; Deschênes 2012; Deschênes et St-Onge 2012) :

- T_S le temps de convergence de l'algorithme,
- \mathcal{D} le domaine de convergence (plage de valeurs initiales pour l'entrée permettant à l'algorithme de converger vers l'optimum),
- ν l'écart net maximal à l'optimum (sur une période) en régime permanent sur la sortie :

$$|y(t) - y^*| \leq \nu \quad (20)$$

Un petit T_S , un grand \mathcal{D} et un petit ν sont désirés (Tan et al. 2008). En effet :

- un petit T_S (temps de convergence, ou en anglais « settling time ») : la sortie de la fonction objective atteint l'optimum plus rapidement,
- un grand \mathcal{D} (la plage de valeurs de l'entrée, au temps initial) : augmente la probabilité que la sortie de la fonction objective atteigne l'optimum,
- un petit ν (l'écart net maximal à l'optimum sur une période) : la variation de la sortie en régime permanent est plus près de l'optimum.

De ce qui peut être déterminé par l'utilisateur, le résultat de performance de la commande extrémale dépend notamment des caractéristiques de l'onde d'excitation (fréquence, amplitude et puissance normalisée), du gain intégrateur (Tan et al. 2008) et des filtres (passe-haut et passe-bas) utilisés. Ces éléments peuvent être choisis par l'utilisateur.

La prochaine partie de cette revue de littérature présente les avancements en ce qui concerne les réglages des paramètres de la commande extrémale par la méthode des perturbations:

- types d'onde d'excitation exogène $d(t)$ (notamment sinusoïde et carrée),
- amplitude de l'onde d'excitation exogène a ,
- fréquence de l'onde d'excitation exogène ω ,

- gain de l'intégrateur k (ou $\delta\omega$) et type de contrôleur (notamment proportionnel et proportionnel-dérivateur),
- type de filtre pré-démodulateur $W_H(s)$ (notamment passe-haut et passe-bande),
- fréquence de coupure du filtre pré-démodulateur ω_h

1.3.4 Réglage des paramètres de la boucle

Cette section présente les avancements en ce qui concerne les réglages des paramètres (l'onde d'excitation exogène ainsi que la valeur de son amplitude et de sa fréquence, le réglage du contrôleur, le filtre pré-démodulateur ainsi que sa fréquence de coupure) de la boucle de la commande extrémale par la méthode des perturbations. Du côté du filtre passe-bas $W_L(s)$, ce dernier n'est pas toujours nécessaire, car l'intégrateur peut aussi agir comme élément passe-bas (Ariyur et Krstić 2003; Deschênes et St-Onge 2013).

Choix de l'onde d'excitation exogène

La majorité des développements sur la commande extrémale considère une relation statique entre θ (l'entrée au système) et y (sortie de la fonction objective). Pour cela, l'onde d'excitation $d(t)$ (Figure 2) doit osciller à une fréquence ω relativement faible (Astrom et Wittenmark 1995; Krstić et Wang 2000; Ariyur et Krstić 2003). Cependant, un tel réglage résulte en une optimisation assez lente et ne permet pas de faire efficacement usage de la dynamique naturelle du procédé (Deschênes et St-Onge 2013). Enfin, la lenteur des oscillations ω à utiliser n'est jamais définie clairement dans la littérature en présence d'une dynamique de procédé. Cet aspect est traité plus en détails dans Deschênes et St-Onge (2013) et Deschênes (2012) pour les cas où le procédé possède une structure Wiener-Hammerstein. En se basant sur les approximations asymptotiques des fonctions de transfert (Haykins et Veen 2005; Ogata 2010), celles-ci suggèrent que pour que la dynamique du

système soit effectivement négligeable du point de vue du signal d'excitation, sa fréquence fondamentale doit être 10 fois plus lente que la fréquence dominante (inverse de la constante de temps dominante) de ce système. Il en serait de même pour la fréquence de coupure du filtre passe-haut versus la fréquence fondamentale du signal d'excitation (pour un impact nul sur la phase).

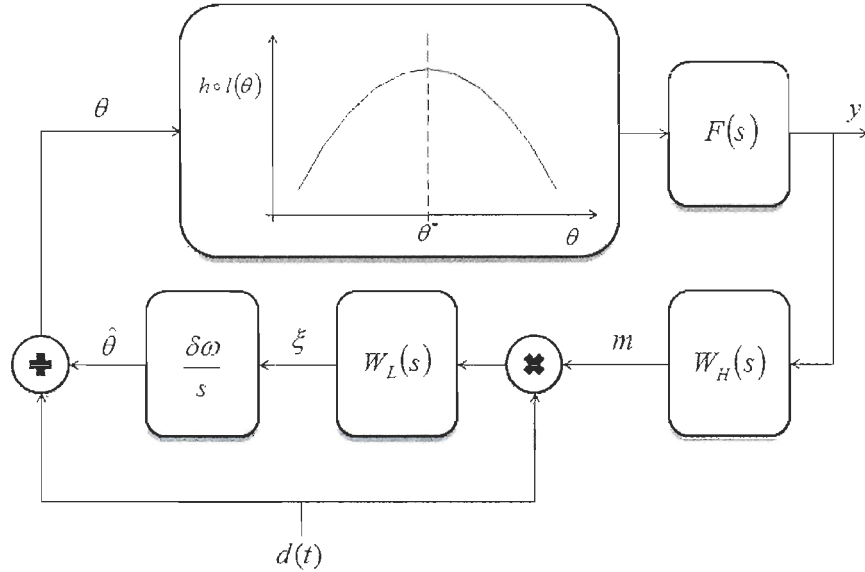


Figure 2 : Commande extrême sur un procédé non-linéaire monoparamétré

Dans la littérature, l'onde de perturbation exogène est habituellement un signal sinusoïdal, même si d'autres signaux peuvent être utilisés (Merkov 1967a; Tan et al. 2008; Deschênes et St-Onge 2013). Les signaux d'excitation périodiques ont fait leurs preuves dans les pratiques de la stabilisation des systèmes de contrôle non-linéaire (Zames et Shneydor 1977; Gelig et Churilov 1998; Iannelli et al. 2003; Teel et al. 2004). Iannelli et al. (2003) analysent la relation entre la forme de l'onde d'excitation et les performances en boucle fermée et montrent notamment que la fonction de distribution de l'amplitude joue un rôle important dans le processus. Tan et al. (2008) s'inspirent de ce résultat pour étudier, dans le cas des systèmes non-linéaires, la relation entre les trois indicateurs de performances (T_s , \mathcal{D} et ν) et le paramétrage de l'onde d'excitation, sinusoïdale, triangulaire ou carrée (Figure 3).

Tan et al. (2008) démontrent que le temps de convergence dépend non seulement de la fonction objective, mais aussi d'une constante de proportionnalité. À noter que cette affirmation est exacte dans le cas où a et δ sont suffisamment petits. Dans le cas contraire, ils risquent de nuire à la précision de l'algorithme, augmenter la sensibilité aux bruits de la boucle et à la stabilisation de la commande extrême (Tan et al. 2008). La constante mentionnée ci-haut est le produit de quatre termes :

- k un paramètre du contrôleur (aussi représenté par $\delta\omega$), dont plus de détails sont abordés dans la sous-section « Intégrateur (contrôleur) »,
- a l'amplitude de l'onde d'excitation,
- ω la fréquence de l'onde d'excitation,
- P_d la puissance normalisée de l'onde d'excitation.

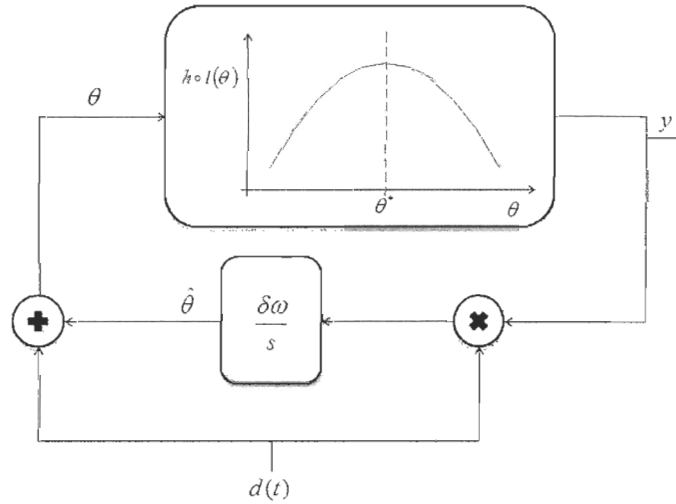


Figure 3 : Système non-linéaire avec commande extrême, sans filtre passe-haut (Tan et al. 2008)

D'ailleurs, pour des valeurs fixes de a , δ et P_d , et quand a et δ sont suffisamment petits, le temps de convergence diminue en augmentant ω .

Tan et al. (2008) vont encore plus loin dans leurs analyses, montrant que pour tous les types d'onde d'excitation (sinusoïdale, triangulaire et carrée), \bar{D} et ν sont similaires lorsque a et δ sont très près de 0. Toutefois, l'onde carrée engendre toujours le temps de convergence le plus rapide pour un même a et un même δ . Le temps de convergence est donc étroitement lié à la puissance normalisée de l'onde d'excitation : la puissance normalisée P_d de l'onde carrée est deux fois plus élevée que celle de l'onde sinusoïdale et 3 fois plus élevée que celle de l'onde triangulaire. Les temps de convergence avec ces signaux respectent ces mêmes proportions.

Dans une autre étude relativement récente, Chioua (2008) démontre que $\tilde{\theta}$, la différence entre la valeur moyenne actuelle $\hat{\theta}$ et la valeur optimale θ^* de la variable manipulée en entrée de l'algorithme de commande extrémale, pour un système non-linéaire général est proportionnelle à a^2 et ω^2 . Une conséquence immédiate de ce résultat est que l'optimisation doit être lente non seulement pour des considérations de stabilité, mais aussi pour s'assurer que $\tilde{\theta}$ demeure petit.

Pour finir, Chioua (2008) quantifie $\tilde{\theta}$, la différence entre la valeur moyenne actuelle $\hat{\theta}$ et la valeur optimale θ^* de la variable manipulée en entrée de l'algorithme de commande extrémale, pour deux catégories de systèmes :

- ceux pouvant être décrits par des modèles Wiener-Hammerstein (largement utilisés pour représenter des systèmes ayant des dynamiques non-linéaires (Wittenmark et Evans 2001)),
- ceux dont la dynamique non-linéaire exclut la représentation Wiener-Hammerstein.

Pour les deux catégories, $\tilde{\theta}$ est proportionnelle à ω^2 . En ce qui concerne la catégorie plus particulière des systèmes pouvant être représentés par les modèles Wiener-Hammerstein, l'erreur est également proportionnelle à a^2 . Choisir une amplitude suffisamment faible minimise donc l'effet de la fréquence ω^2 et une convergence plus rapide (T_s plus petit) peut ainsi être obtenue.

Filtre pré-démodulateur

En règle générale, le filtre utilisé pour filtrer la composante continue DC du signal de sortie \bar{y} est de type passe-haut et du premier ordre (

Figure 1). Le filtrage de \bar{y} permet de rapprocher l'amplitude de $\theta(\omega t)$ de l'amplitude de $d(\omega t)$:

$$\theta(\omega t) = d(\omega t) + \hat{\theta}(\omega t) = a \sin(\omega t) + a\delta\bar{y} \sin\left(\omega t - \frac{\pi}{2}\right) \quad (21)$$

Si les valeurs de \bar{y} et δ sont trop élevées, alors l'amplitude et la phase de $\theta(\omega t)$ sont plus difficiles à estimer. Ce phénomène peut conduire à une opération de démodulation sévèrement désynchronisée et, de ce fait, dégrader la précision de l'algorithme de la commande extrémale (Deschênes et St-Onge 2012).

D'autre part, $W_H(s)$, et $F(s)$, induisent un déphasage ϕ et un gain dans le signal $\theta(\omega t)$. Deschênes et St-Onge (2012) montrent comment la composante continue du signal ξ (entrée du bloc intégrateur) est particulièrement sensible à ce dernier. Le signal démodulé, qui est le produit entre l'onde d'excitation $d(\omega t) = a \sin(\omega t)$ et le contenu dans $m(t)$ à la fréquence ω (appelé $m(\omega t)$), est le suivant :

$$\xi = d(\omega t) \times m(\omega t) = a \sin(\omega t) \times b \sin(\omega t - \phi) = \frac{ab}{2} \cos(\phi) - \frac{ab}{2} \cos(2\omega t - \phi) \quad (22)$$

où

$$\frac{ab}{2} \cos(\phi) \quad (23)$$

est la composante continue du signal. Une valeur trop importante du déphasage (si ϕ est au-delà de $\pm \pi/2$) peut donc tromper l'intégrateur en lui « faisant croire » que la sortie du système est du mauvais côté du réel optimum, ou même déjà à cet endroit (si ϕ est exactement égal à $\pm \pi/2$). Ce constat montre l'importance de la synchronisation de

l'opération de démodulation, qui est notamment influencée par le choix du filtre pré-démodulateur.

Pour une valeur donnée de a , ω et δ , ainsi qu'une dynamique de $F(s)$ fixe, on démontre dans Deschênes et St-Onge (2013) que le taux de convergence est maximal lorsque la composante continue de ξ est également maximale (après les impacts de $F(s)$ et $W_H(s)$ sur la phase et l'amplitude de $m(\omega t)$). En fixant ω , l'équation à maximiser est la suivante dans le cas particulier d'un système de premier ordre général ($F(s) = 1/(1 + \tau s)$) et d'un filtre passe-haut de premier ordre ($W_H(s) = s/(\omega_h + s)$) (Deschênes et St-Onge 2012) :

$$J(\omega_h) = \frac{1}{\sqrt{\omega^2 + \omega_h^2}} \times \cos\left(\frac{\pi}{2} - \arctan\left(\frac{\omega}{\omega_h}\right) - \arctan(\tau\omega)\right) \quad (24)$$

Ces effets sont quantifiables dans le cas où $F(s)$ et $W_H(s)$ sont connues. Deschênes et St-Onge (2013) définissent une relation entre la fréquence de l'onde d'excitation et la fréquence de coupure d'un filtre passe-haut de premier ordre qui permet de maximiser l'amplitude de la composante continue de ξ , pour les systèmes de type Wiener-Hammerstein. Cela permet à l'intégrateur d'agir plus rapidement sur l'information fournie (du gradient), accélérant la convergence de l'algorithme vers le réel optimum. Dans le cas d'une dynamique de procédé $F(s)$ de premier ordre (de constante de temps τ) et d'un filtre passe-haut de premier ordre, la relation entre la fréquence de coupure ω_h de ce filtre passe-haut et la fréquence d'excitation ω qui permette ce résultat optimal peut être obtenue assez simplement algébriquement, et est donnée par :

$$\omega_h = \omega \tan\left(\frac{1}{2} \arctan(\tau\omega)\right) \quad (25)$$

Deschênes et St-Onge (2013) démontrent également que des filtres passe-haut d'ordres supérieurs (ordre 2 et plus) peuvent améliorer davantage les performances de l'algorithme dans certaines situations en apportant une compensation de phase ϕ plus importante. Cela est davantage intéressant à mesure que la fréquence ω devient plus élevée. Il y est également spécifié qu'en pratique, on peut cependant se limiter à des filtres d'ordre 2 (pour limiter la

complexité) et plutôt modifier le déphasage du signal démodulateur $d_m(t)$ si la compensation de phase nécessaire devient plus importante que ce que le filtre d'ordre 2 peut apporter.

Intégrateur (contrôleur)

Au minimum, on retrouve une action intégratrice I dans la boucle de retour de la commande extrémale. Toutefois, l'insertion d'un compensateur dynamique (contrôleur proportionnel P ou proportionnel-dérivateur PD) suite à l'intégrateur peut être envisagée pour améliorer les performances de la boucle de la commande extrémale (Krstić 1998; Rotea 2000; Walsh 2000; Ariyur et Krstić 2002; Li et al. 2005). Un contrôleur PD, comparé à un contrôleur P, peut diminuer le temps de convergence T_s sans pour autant nuire à la stabilité de l'algorithme. Cependant, une trop grande activité dérivative peut effectivement déstabiliser le système (Krstić 1998; Li et al. 2005). De plus, quand un procédé manifeste une large bande passante, l'ajoute d'une action dérivative risque d'augmenter la sensibilité du système aux bruits (Krstić 1998).

D'autre part, pour des raisons pratiques, le gain k est habituellement remplacé par la multiplication du gain δ (gain de l'intégrateur à la fréquence ω (réponse en fréquences)) et la valeur de la fréquence ω de $d(t)$. En effet, le gain de l'intégrateur à différentes fréquences est en fonction de la valeur de la fréquence : les signaux ayant des fréquences plus élevées sont filtrés par l'intégrateur (agit comme un filtre passe-bas).

Dans la sous-section 1.3.4 « Réglage des paramètres de la boucle », il est mentionné que Tan et al. (2008) ont démontré que le temps de convergence dépend non seulement de la fonction objective, mais aussi d'une constante de proportionnalité : $\delta\omega \cdot a \cdot \omega \cdot P_d$ où P_d est la puissance normalisée de l'onde d'excitation. Cette affirmation est valable encore une fois seulement si a et δ sont suffisamment petits. Dans le cas contraire, ils risquent de nuire à la précision de l'algorithme, augmenter la sensibilité aux bruits de la boucle et nuire à la stabilisation de la commande extrémale.

La présente section de cette revue de littérature a fait état des avancements concernant les réglages des paramètres de la commande extrême par la méthode des perturbations ($d(t)$, a , ω , $\delta\omega$ et types de contrôleur, $W_H(s)$ et ω_h) et de l'influence de ces derniers sur la performance de la commande extrême (T_s , D , $\tilde{\theta}$ et ν).

À la section suivante, les améliorations récentes apportées aux composantes de la boucle « classique » de la commande extrême par la méthode des perturbations (

Figure 1 et Figure 2) sont présentées.

1.3.5 Modification du schéma classique de la commande extrême par la méthode des perturbations

Certaines publications présentent des schémas de commande extrême modifiés. Ces modifications sont apportées dans le but d'améliorer la performance de l'algorithme de la commande extrême. L'objectif de la présente section est de présenter quelques modifications récentes apportées à la boucle « classique » de la commande extrême.

Chioua (2008) propose deux solutions permettant de diminuer T_s , tout en préservant la stabilité de la boucle. La première destinée aux systèmes Wiener-Hammerstein, consiste en un algorithme de compensation de phase pour corriger le déphasage induit par $F(s)$. Cette boucle de compensation de phase nécessite la connaissance du signe du gradient et l'implémentation d'une onde d'excitation exogène supplémentaire à basse fréquence (les blocs introduits par la modification de la méthode classique des perturbations et le bloc déphaseur introduit un retard de phase $\hat{\phi}$ sont encadrés en pointillés (Figure 4)). Une preuve de convergence de cet algorithme est fournie : elle est validée en simulation pour l'optimisation d'un système réactif et d'une unité industrielle de désencrage de pâte à papier. Les résultats confirment que T_s diminue.

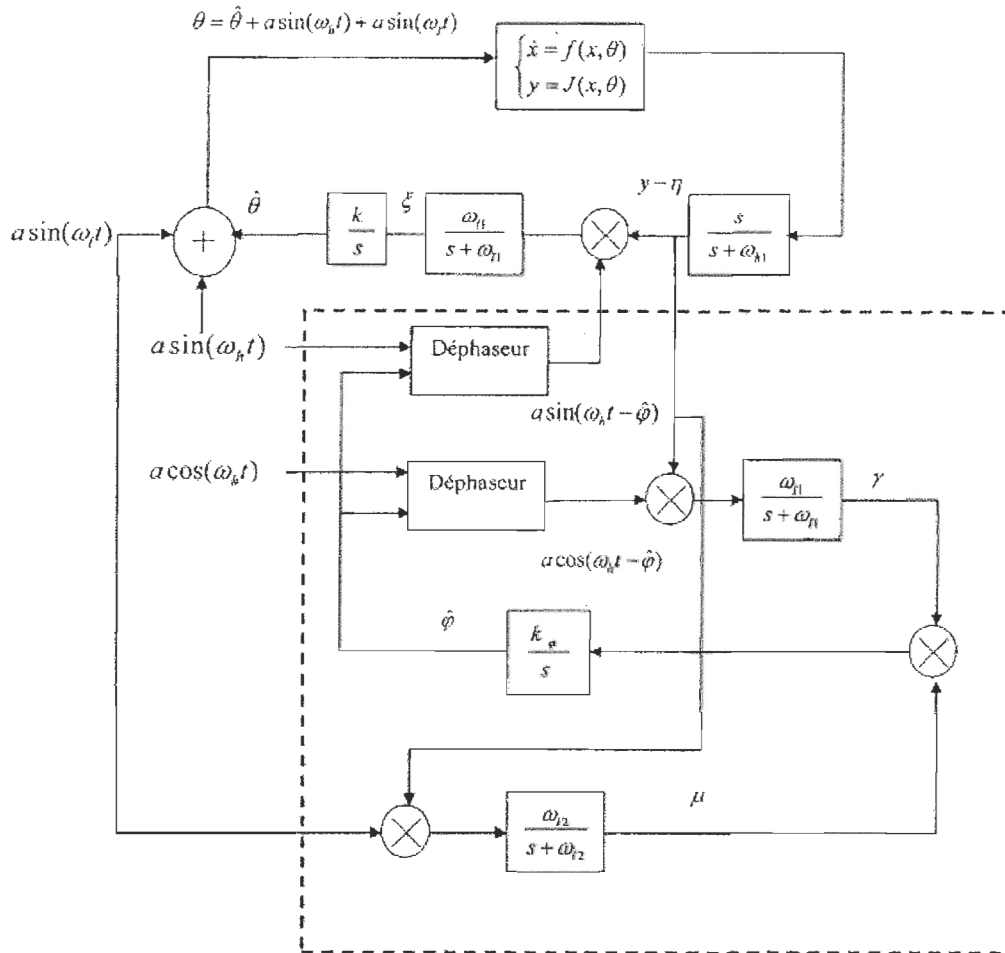


Figure 4 : Commande extrême par la méthode des perturbations avec compensation de phase (image intégralement utilisée, source: Chioua 2008)

La seconde solution, qui vise plutôt les systèmes ne pouvant être représentés par des modèles de type Wiener-Hammerstein, consiste à substituer l'estimation par filtrage linéaire ($W_H(s)$) par une approximation. Celle-ci est effectuée à l'aide de la méthode des moindres carrés récursive avec un facteur d'oubli. L'utilisation des moindres carrés permet de réduire le problème d'une échelle de temps : le problème de la séparation temporelle de $d(t)$ et de l'estimation du gradient. Les résultats de la simulation de l'optimisation en temps réel d'un

réacteur continu parfaitement mélangé avec réaction de Van de Vusse indiquent que $T(s)$ peut être significativement réduit (6300h à près de 200h).

Une méthode d'accélération de la convergence couramment suggérée dans la littérature consiste à implémenter une stratégie de contrôle en cascade. Par exemple, le fait d'optimiser des procédés avancés d'oxydation dans le traitement des eaux usées (Martinez 2007). Cette méthode est constituée (1) d'une boucle interne de commande destinée à la stabilisation et à l'accélération du système et (2) d'une boucle externe générant la consigne optimale. Chioua (2008) analyse l'impact d'incorporer une commande par anticipation/rétroaction en termes d'amélioration des performances. Celle-ci a pour effet d'augmenter la bande passante et diminuer l'erreur de l'algorithme $\tilde{\theta}$.

Cependant, Chioua (2008) démontre que la commande en cascade ne garantit pas un faible T_s . Si l'ordre du système est supérieur à 1, l'introduction d'une commande en cascade peut nuire à la performance de la boucle de commande extrême par une augmentation de $\tilde{\theta}$ et de T_s .

D'ailleurs, même si la commande extrême par la méthode des perturbations s'est avérée efficace dans certaines applications (p. ex. : maximisation de production de biomasse en bioréacteur (Wang et al. 1999)), Dochain et al. (2011) sont d'avis que l'incertitude en rapport aux performances transitoires reste un inconvénient important dans son application. Guay et Zhang (2003) ont proposé une alternative à la méthode des perturbations n'exigeant plus la mesure de la fonction objective. Plutôt, la fonction objective est explicitement connue en tant que fonction des états et des paramètres d'incertitude des équations dynamiques du système. Les incertitudes paramétriques empêchent à l'algorithme de reconstruire la véritable fonction objective : seulement une approximation, basée sur l'estimation des paramètres, est disponible. L'objectif de contrôle, qui fait appel à des méthodes de commande adaptative non-linéaire (Kokotovic 1992; Krstić et al. 1995; Sepulchre et al. 1997), consiste à identifier et à optimiser le système simultanément. Les résultats dans Guay et Zhang (2003) ont contribué à raviver l'intérêt pour cette classe d'algorithmes d'optimisation en temps réel (Zhang et al. 2003; Titica et al. 2003a; Marcos et al. 2004; Marcos et al. 2004).

1.3.6 Conclusion sur l'état de l'art de la commande extrême par méthode des perturbations

Après avoir discuté de l'état de l'art de la commande extrême par la méthode des perturbations, nous allons démontrer l'applicabilité de cette méthode dans le domaine des bioprocédés. La conception et l'analyse de systèmes de contrôle reposent sur l'accessibilité au modèle du procédé, ce qui est très difficile dans le cas des bioprocédés, car les modèles sont le plus souvent incomplets et notre compréhension de ces systèmes demeure souvent limitée. De ce fait, optimiser des bioprocédés à l'aide d'une commande extrême peut se révéler une très bonne approche, en l'absence de tels modèles.

1.4 LE CONTRÔLE DE PROCÉDÉ DANS L'INDUSTRIE DES BIOPROCÉDÉS

1.4.1 Introduction

L'utilisation de microorganismes photoautotrophes en tant qu'usine cellulaire prend de l'ampleur grâce à leur potentiel élevé dans la production de substances nécessaires au développement des industries pharmaceutiques, agrochimiques et agro-alimentaires (Titica et al. 2003a; Pulz et Gross 2004). Certains additifs alimentaires sont par exemple composés de caroténoïdes, lipides et acides gras polyinsaturés provenant de microalgues. Ces espèces ont également un grand potentiel dans le domaine des biocarburants, et sont anticipées comme une bonne source (renouvelable) pour palier l'épuisement des ressources pétrolières (Costa et Moraisa 2011; Nigam et Singh 2011). Enfin, les bioplastiques (Wu 2011) à base de microalgues suscitent également un intérêt, en constante croissance.

D'après Dochain (2008), les techniques dans le domaine des biotechnologies peuvent être regroupées en trois grandes catégories :

- microbiologie et génie génétique,
- ingénierie du bioprocédé,

- contrôle du bioprocédé.

Le dernier, qui concerne de plus près ce projet de maîtrise, a pour rôle d'augmenter la productivité d'un bioprocédé par sa conduite automatisée via l'utilisation de méthodes d'observation et de contrôle.

Au sens large, un procédé de production à base de microorganismes (bioprocédé) exige une présence suffisante de nutriments (sources de carbone, d'oxygène, d'intensité lumineuse, d'azote, etc.) et des conditions physicochimiques propices à leur bon développement (pH, température, agitation, etc.). Bastin et Dochain (1990), identifient cinq variables permettant d'améliorer la productivité d'un bioprocédé si celles-ci sont contrôlées de façon précise :

- la concentration en substrat,
- la concentration en oxygène dissout,
- la concentration d'un produit (excrété par la biomasse),
- le dégazage (p.ex. d'un gaz produit lors de la respiration cellulaire),
- le taux de dilution (ou de renouvellement du milieu de culture frais).

Dans le cas de la production de biomasse de microalgue en photobioréacteur, la productivité dépend non seulement de ces facteurs nutritionnels et environnementaux, mais aussi de l'intensité lumineuse, de la longueur d'onde (disponibilité de la lumière pour la photosynthèse) et de la dynamique des fluides (turbulences) auxquels les cellules sont soumises (Grima et al. 1999; Wu et Merchuk 2001; Pruvost et al. 2002; Merchuk et Wu 2003).

Une faible amélioration des performances d'un système peut engendrer des retombées économiques importantes (Wang et al. 1999; Ariyur et Krstić 2003; Marcos et al. 2004; Dochain 2008). La prochaine sous-section présente les principales raisons derrière la problématique liée à l'obtention d'une bonne régulation des facteurs environnementaux des cultures (concentration de substrat, concentration d'oxygène dissout, concentration du produit, dégazage et taux de dilution).

1.4.2 Problématiques relatives au contrôle des bioprocédés

Les dynamiques des bioprocédés ne sont pas encore toutes bien comprises, car elles sont non-linéaires et non-stationnaires (Wang et al. 1999). En effet, les bioprocédés mettent en œuvre des organismes vivants manifestant des caractéristiques naturellement difficiles à appréhender. Le développement de modèles prenant en compte les nombreux facteurs qui influencent la croissance de microorganismes et autres activités biochimiques devient rapidement un travail laborieux (Dochain 2008).

Aussi, l'absence d'appareils fiables pour la mesure rend difficile la prise de données et le monitoring adéquat du procédé en temps réel (Bastin et Dochain 1990; Dochain 2008). La majorité des variables clés de ces procédés (concentration cellulaire, taux de croissance de la culture, concentration des nutriments et des métabolites d'intérêt) ne sont généralement mesurables qu'en laboratoire (analyses hors-ligne) à l'aide d'appareils souvent coûteux et requérant des entretiens laborieux (Dochain 2008). La production à l'échelle industrielle fait donc également face à cette même problématique. Un autre inconvénient est la relative lenteur de la croissance des microalgues (Fleck-Schneider 2007).

L'efficacité d'un système de contrôle dépend fortement de la mise en place des techniques de contrôle et de mesure. Les performances de ces techniques sont quantifiées selon leur capacité à fonctionner avec les informations disponibles (généralement peu disponible dans le cas des bioprocédés) et leur robustesse face aux incertitudes sur celles-ci (si l'information manquante détériorera ou non la performance des algorithmes de contrôle du procédé). La flexibilité actuelle des plateformes informatiques facilite beaucoup la conception et l'implémentation de stratégies de contrôles plus sophistiquées ou complexes, dont fait partie la commande extrémale.

Tel que mentionné précédemment, la commande extrémale permet de déterminer le point d'opération optimal d'une fonction objective obtenue en temps réel sur un système dont la dynamique et certains paramètres du bioprocédé sont incertains (Titica et al. 2003a; Marcos et al. 2004). La prochaine section présente les résultats apportés grâce à cette stratégie de contrôle dans le domaine des biotechnologies et des bioprocédés.

1.5 APPLICATIONS DE LA COMMANDE EXTRÉMALE À L'OPTIMISATION DES BIOPROCÉDÉS

Dans cette sous-section, la littérature disponible sur l'optimisation de différentes fonctions des bioréacteurs est présentée, soit la (1) production de biomasse et (2) production de métabolites d'intérêt (produits). La dernière sous-section discute de la commande extrémale adaptative (méthode des modèles) de ce domaine. À noter que tous les résultats présentés dans la littérature dans ce domaine sont obtenus uniquement en simulations.

1.5.1 Optimisation de la production de biomasse

La première tentative d'implémentation de la commande extrémale sur un bioprocédé parue dans Wang et al. (1999), applique cette commande à un modèle d'un bioréacteur en mode de récolte continu afin d'optimiser la production de biomasse ($y = D \cdot X$). Cette optimisation est réalisée en ajustant continuellement le taux de dilution D du système (la variable manipulée en entrée du système est directement le taux de dilution D). Deux modèles de croissance sont étudiés dans cet article, soient les modèles de Monod et Haldane (section 3.2.3). Dans les deux cas, la commande extrémale permet d'atteindre les valeurs optimales de production respective, mais avec une vitesse de convergence vraiment très lente, voir impraticable dans la réalité physique.

Bastin et al. (2009) évoquent la difficulté de déterminer le point optimal, en état stationnaire, du meilleur compromis entre le rendement (quantité de produits fabriqués par unité de substrat introduite dans le bioréacteur) et la productivité (quantité de produits récoltés à la sortie du bioréacteur par unité de temps) du bioréacteur en utilisant la commande extrémale, et ce, en apportant une attention particulière aux procédés avec plusieurs états stationnaires et avec des fonctions objectives à valeurs multiples. En conclusion, l'analyse montre que la commande extrémale est performante pour résoudre les problématiques rendement versus productivité en prenant soin de bien régler l'amplitude du signal d'excitation exogène.

1.5.2 Optimisation de la production de métabolites d'intérêts

Fermenteurs

Suite aux résultats dans Wang et al. (1999), de nombreuses autres publications apparaissent dans le domaine de l'optimisation de bioprocédés à l'aide de la commande extrême dont celle de Nguang et Cheng (2000). La commande extrême par la méthode des perturbations est appliquée à un fermenteur. L'idée est d'ajuster itérativement le débit entrant de substrat afin d'arriver à une productivité maximale.

Dewasme et al. (2011) appliquent la commande extrême à un bioréacteur en mode « fed-batch ». L'idée est d'ajuster itérativement le débit entrant de substrat afin d'éviter un « débordement de métabolisme » et par le fait même d'arriver à maximiser simultanément la consommation de glucose et la capacité respiratoire. Le « débordement de métabolisme » est caractérisé par un phénomène métabolique qui se manifeste lorsque le taux de glycolyse (taux de réaction chimique qui convertit le glucose en pyruvate) dépasse une valeur critique, conduisant à la formation d'un produit inhibiteur à partir de pyruvate. Deux procédures d'estimation de gradient sont étudiées : (1) avec filtres (passe-haut, passe-bas et intégrateur) et (2) avec algorithme des moindres carrés récursifs. En conclusion : l'algorithme des moindres carrés récursifs offre les meilleures performances.

Formation de biogaz

Dans la publication de (Simeonov et Stoyanov (2011), la commande extrême par la méthode des perturbations est implémentée, pour la première fois, sur un système de composé de deux bioréacteurs anaérobiques en cascade.

La digestion anaérobie est un bioprocédé efficace pour le traitement de différents déchets municipaux, industriels et agricoles. Aussi, elle combine la dépollution environnementale ainsi que la production d'énergie renouvelable (le biogaz). L'idée est d'ajuster itérativement le taux de dilution du premier bioréacteur afin de maximiser la formation de biogaz (en majeure partie du méthane) de ce dernier. Simeonov et Stoyanov

(2011) précisent que l'algorithme utilisé est beaucoup plus facile à implémenter que ceux présentés dans Dochain 2008; Cougnon et al. (2010). Dans une autre publication, Alferes (2010) propose de combiner commande extrême et la logique floue afin d'améliorer la production de biogaz.

1.5.3 Commande extrême adaptative dans le domaine de l'optimisation de bioprocédés

Une alternative à la commande extrême par la méthode des perturbations est la commande extrême adaptative (« model based adaptive extremum seeking control »). Cette méthode consiste à considérer explicitement un modèle dynamique du système, régi par des paramètres inconnus et à combiner la recherche de l'optimum et le contrôle adaptatif afin que le système en boucle fermée converge vers des points d'opérations optimaux (Dochain et al. 2011). Cette méthode a été proposée pour la première fois par Guay et al. (2002). Suite à cette publication, une multitude de publications font leurs apparitions dans le domaine de l'optimisation de bioprocédés (Guay et Zhang 2003; Titica et al. 2003a; Zhang et al. 2003; Titica et al. 2003b; Marcos et al. 2004; Marcos et al. 2004; Dochain 2008; Dimitrova et Krastanov 2009; Cougnon et al. 2010; Dimitrova et Krastanov 2010).

Dochain et al. (2011) présentent une vue d'ensemble intéressante sur la commande extrême adaptative. Notamment en présentant, à l'aide de simulations, les performances de deux cas différents ; dans l'un des cas, la structure du modèle est connue alors que dans l'autre, la structure du modèle n'est que partiellement connue. Ils en concluent que cette stratégie de contrôle, en plus d'optimiser les procédés en assurant une convergence efficace de la consigne vers sa valeur optimale, identifie ses coefficients. Alors c'est une technique d'optimisation de choix pour les procédés complexes. Toutefois, malgré qu'elle ait fait ses preuves en simulation, son application sur des systèmes réels reste complexe.

1.5.4 Conclusion sur la commande extrême par la méthode des perturbations dans le domaine de l'optimisation de bioprocédés

Cette deuxième partie de revue de littérature a montré le rôle de la commande extrême par la méthode des perturbations au sein des techniques d'optimisation dans le domaine des bioprocédés. La détermination de l'opération optimale d'un bioprocédé est depuis longtemps un problème considérable.

Les publications en rapports à l'optimisation des différentes fonctions des bioréacteurs se divisent en deux catégories :

- production de biomasse,
- production de métabolites d'intérêts (optimisation de la production de métabolites d'intérêts, fermenteurs, formation de biogaz).

Cette deuxième partie a permis de mettre en évidence l'importance de l'application de la commande extrême dans le domaine des biotechnologies et des bioprocédés.

1.6 CONCLUSION

Les bioprocédés sont des procédés complexes reconnus pour être difficiles à modéliser et à paramétrer précisément. Leur régime d'opération optimal est bien souvent inconnu.

Pour une industrie, il existe donc potentiellement d'importants gains à faire dans l'exploitation de ces procédés. Leur potentiel étant bien établi dans le domaine des bioproduits, comme les biocarburants (Costa et Moraisa 2011; Nigam et Singh 2011) ou les bioplastiques (Ben et al. 2011; Wu 2011), des outils permettant d'en améliorer les rendements d'exploitation seraient un grand atout.

Il a été discuté précédemment que la commande extrême répondait à ce besoin. Les sections suivantes présentent donc les montages physiques utilisés (chapitre 3), les

développements des modèles et du simulateur sur lequel l'algorithme sera développé et ajusté (chapitre 4), et enfin les résultats obtenus (chapitre 5).

CHAPITRE 2

MONTAGES EXPÉRIMENTAUX ET ASPECTS CONNEXES OU PRÉPARATOIRES À L'IMPLANTATION DE LA COMMANDE EXTRÉMALE

2.1 INTRODUCTION SUR LA PRODUCTION DE MICROALGUES

La culture de microalgues à grande échelle a probablement été considérée pour la première fois en Allemagne pendant la Seconde Guerre mondiale. Ceux-ci récoltaient la biomasse pour la production de certaines composantes cellulaires. Cette expérience fût reprise par un groupe de scientifiques à la « Carnegie Institution of Washington », qui publia un résumé (voir Burlew 1953). Le but du projet était de produire la microalgue *Chlorella* à grande échelle pour la production de nourriture et vérifier si le rendement de la production était équivalent à celui en laboratoire. Depuis ce temps, de nombreux ouvrages, tel que Richmond (2004); Becker (2008); Hoff et Snell (2008), ont été publiés au plus grand plaisir des cultivateurs de microalgues. À ce jour, plus près de Rimouski, l'entreprise NutrOcéan fait la production à grande échelle de plusieurs espèces de microalgues, dont *Nannochloropsis oculata*, notamment pour l'aquaculture.

Toutefois, avant de faire la production de microalgues à grande échelle, il importe de comprendre sommairement leurs paramètres de croissance. Celles-ci sont majoritairement photoautotrophes : elles utilisent le processus de photosynthèse (consommation de CO₂ dissout en présence de lumière ainsi que quelques sels nutritifs) pour construire des molécules de carbones plus complexes nécessaires à sa survie, tout comme les plantes terrestres (Hoff et Snell 2008). Ces composés carbonés deviennent ensuite des éléments de structures et des sources d'énergie pour la cellule (Shuler et Kargi 2002). L'espèce cultivée dans le cadre de ce projet de maîtrise, *Nannochloropsis oculata*, est photoautotrophe. Le système de production présenté dans ce chapitre répond donc aux besoins de cette espèce de microalgue.

Le but du présent chapitre est (1) de présenter clairement les aspects techniques associés à la culture de microalgues réalisée dans le cadre de ce projet de maîtrise et (2) de présenter l'instrumentation utilisée afin d'automatiser le procédé, soit la culture de *Nannochloropsis oculata* en photobioréacteurs tubulaires clos éclairés par une source de lumière artificielle. Des données techniques et des images sont présentées pour appuyer ou clarifier certains passages.

2.2 ÉTAPES PRÉPARATOIRES À LA PRODUCTION EN PHOTOBIORÉACTEUR

Cette section présente un bref résumé des techniques et équipements nécessaires à la préparation d'une culture de microalgues en photobioréacteur. Des compléments d'information plus détaillés sont fournis à l'annexe I.

Les souches pures (petite quantité de microalgues commandée à partir des banques de souche commerciales) sont conservées dans des « cryovials » (petits flacons conçus pour stocker des solutions à de très basses températures) et entreposées dans de l'azote liquide à -196°C . Cette température (dite de « cryopréservation ») permet d'éviter différents problèmes liés notamment à la dérive génétique des espèces (Andersen et Arthur 2005). Ainsi, la cryopréservation des souches de microalgues permet une meilleure reproductibilité des expériences, puisque leur point de départ est toujours exactement dans le même état.

Dans la première étape (Figure 5), un cryovial (entreposée dans de l'azote liquide) est décongelé et une petite partie de son volume (2 mL à une concentration cellulaire de $30 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$) est transféré dans tube à essai, et 10,5 mL de culture sont ajoutés pour ramener la concentration cellulaire à $5 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$). Par la suite, pendant environ une semaine, la culture croît lentement, jusqu'à l'atteinte de $30 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$. La deuxième étape et la troisième étape consistent à augmenter le volume de la culture : celle-ci est donc transférée dans un flacon de 250 à 500 mL, dans lequel elle continuera de croître pendant encore environ une semaine pour atteindre $30 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$. Ensuite, elle est transférée dans un nouveau contenant plus grand (appelé « tourie », d'un volume total de 4L), où la concentration est d'environ $5 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$. Après environ trois jours, la culture atteint $30 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$, et est enfin prête

pour la quatrième et dernière étape, l'ensemencement du photobioréacteur. À ce moment, c'est le réel processus de production qui débute. Le processus préparatoire d'amplification des cultures est assez exigeant en termes de temps, car en plus du temps requis pour la croissance à partir de très petits volumes, une nouvelle phase de latence est souvent amorcée lorsque les microalgues sont soumises à un nouvel environnement (Hoff et Snell 2008).

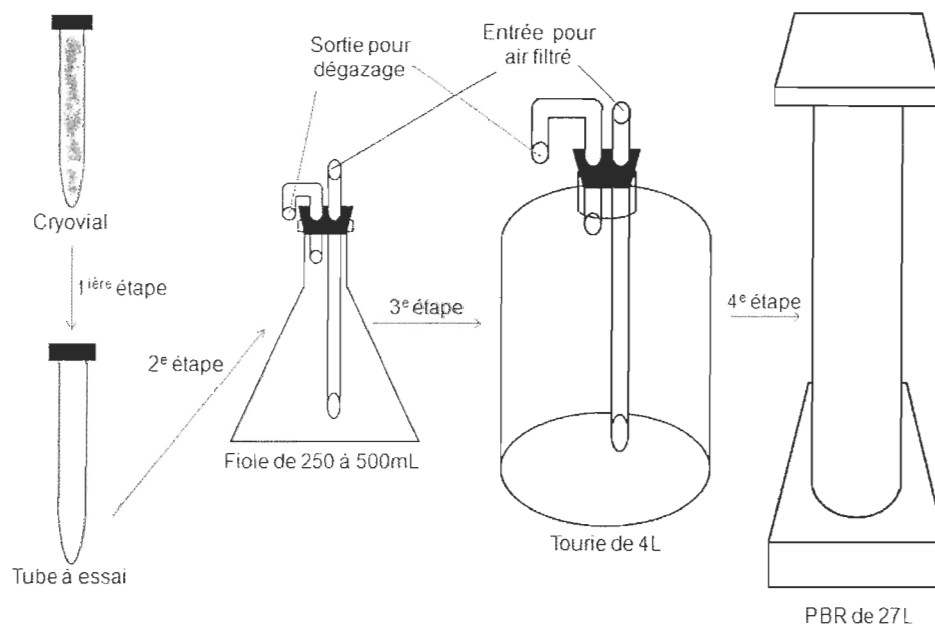


Figure 5 : Les quatre grandes étapes préparatoires à la culture de microalgues en photobioréacteur

Il est recommandé d'utiliser des contenants (tubes à essai, flacons et touries) en verre durant les phases d'amplification (Becker 2008). En effet, le verre est un matériau plus inerte sur le plan chimique que les plastiques (moins de dégradation et de solubilisation de produits dans le milieu de culture). Aussi, les microalgues ont moins tendance à former des biofilms sur une surface de verre, car le substrat est moins adhérent.

Ceux-ci sont généralement fermés soit par un bouchon en coton, un bouchon de caoutchouc ou de plastique, ou encore un couvercle en papier d'aluminium. Ils sont placés dans des endroits illuminés, à température régulée autour de 22,5°C. Comme on peut le constater sur la Figure 5, un tube en verre est souvent inséré à travers le bouchon, vers le

fond du contenant pour laisser passer de l'air filtré et stérilisé (nécessaire pour agiter la culture afin d'éviter la formation de dépôts et l'apport de CO_2 pour accroître la productivité).

Tout au long de ce projet de maîtrise, ces procédures ont été suivies afin de préparer l'ensemencement des photobioréacteurs. Dans la prochaine section, l'instrumentation disponible pour automatiser la production des microalgues dans ces photobioréacteurs sera présentée. Des exemples de données obtenues à partir des différents appareils seront également présentés, ainsi que les premières étapes vers l'automatisation du système (identification des dynamiques intrinsèques et réglage des contrôleurs proportionnel-intégrateur des boucles de base individuelles).

2.3 SYSTÈME PHYSIQUE

Les expériences impliquent l'utilisation de deux photobioréacteurs, devant pouvoir être opérés en mode semi-continu ou en mode continu. Afin de réaliser ces dernières, les différentes composantes requises sont :

- Photobioréacteur,
- Sondes, capteurs et transmetteurs,
- Agitation par bullage d'air,
- Appareils supplémentaires pour la récolte continue,
- Automate,
- Système informatique,
- Système d'approvisionnement en eau de mer.

Ces différentes composantes seront présentées dans cette section.

2.3.1 Photobioréacteur

Le photobioréacteur lui-même (Figure 6) est un modèle à taille réduite des systèmes industriels utilisés par NutrOcéan. Il est de forme cylindrique et peut être opéré à un volume utile de 27L. Le cylindre est muni de deux entrées pour sondes, dont une sonde à pH (InPro3253 de Mettler-Toledo), illustrée à la Figure 7, et une sonde à oxygène dissout (DO), modèle InPro6800 de Mettler-Toledo également. Il repose sur une base et est recouvert d'un couvercle qui sont décrits plus loin. L'éclairage artificiel fourni est de type fluorescent, avec des tubes T5HO (deux de chaque côté, puissance individuelle de 54W, température de lumière de 5000 K et longueur de 45.8 pouces).

La base du cylindre comporte trois orifices (Figure 8) :

- une vanne d'échappement/remplissage (au-devant de la base),
- une entrée pour l'air et le dioxyde de carbone (côté gauche de la base),
- une sortie pour la récolte en continu de la biomasse (côté droit de la base).

Le couvercle (Figure 9) est fixé sur le cylindre. Le rôle de ce couvercle est principalement d'empêcher divers contaminants (ex. : poussières, insectes, etc.) d'entrer en contact avec la culture. Il est muni de trois orifices : l'une pour le dégazage et fixer l'échantillonneur (pour le monitoring hors-ligne de la culture), une autre pour introduire du milieu de culture frais (opération en mode continue), et un dernier pour la fixation d'un capteur de niveau (modèle LVU104 de la compagnie Omega) (Figure 9).

Le couvercle (Figure 9) est fixé sur le cylindre. Le rôle de ce couvercle est principalement d'empêcher divers contaminants (ex. : poussières, insectes, etc.) d'entrer en contact avec la culture. Il est muni de trois orifices : l'une pour le dégazage et fixer l'échantillonneur (pour le monitoring hors-ligne de la culture), une autre pour introduire du milieu de culture frais (opération en mode continue), et un dernier pour la fixation d'un capteur de niveau (modèle LVU104 de la compagnie Omega) (Figure 9).

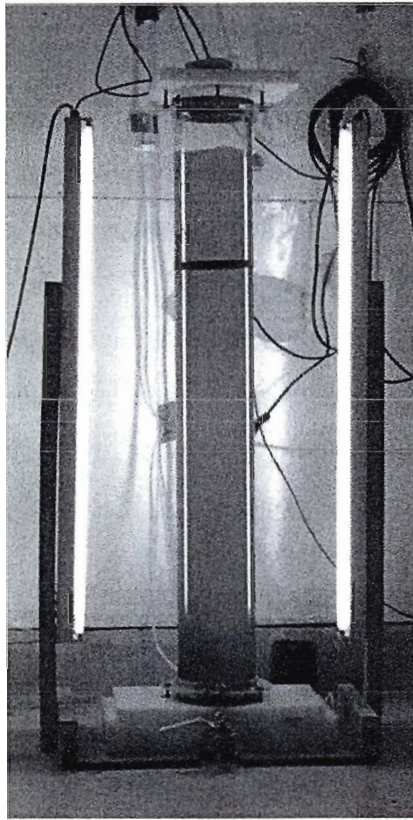


Figure 6 : Photobioréacteur avec fluorescents T5HO



Figure 7 : Sonde à pH insérée dans son « housing » puis dans le photobioréacteur

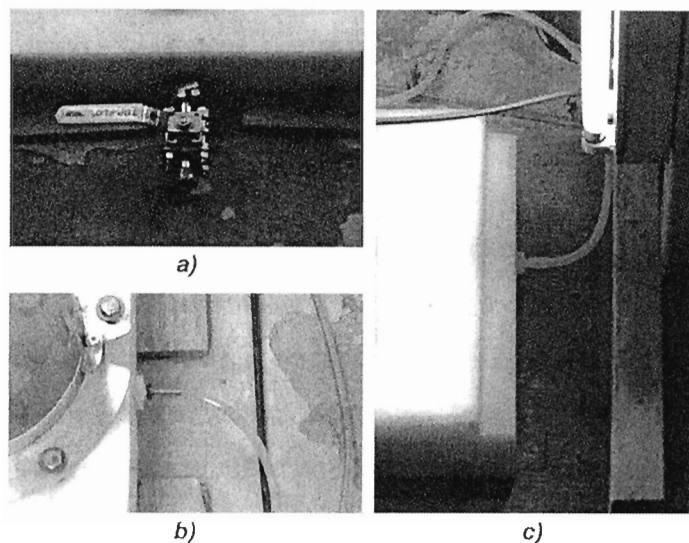


Figure 8 : *a)* Vanne d'échappement/remplissage, *b)* sortie récolte de la biomasse en continu et *c)* l'entrée d'air et du dioxyde de carbone

Sur deux côtés opposés du cylindre, des colonnes composées de 2 tubes fluorescents T5HO (54W) chacune sont dressées. L'éclairage fourni par ces colonnes est d'environ $130 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ sur les surfaces extérieures directement exposées aux fluorescents. La disponibilité de la lumière est un facteur très important dans la croissance des microalgues photoautotrophes : elle est souvent la principale limitation (Richmond 2004).

La Figure 10 et le Tableau 1 présentent les dimensions du photobioréacteur.



Figure 9 : Couvercle de photobioréacteur prêt pour une opération en mode continu, avec capteur LUV104 d'Omega

2.3.2 Sondes, capteurs et transmetteurs

Sonde à pH

Les pH des cultures sont mesurés en temps réel par des électrodes de pH InPro3253 de Mettler-Toledo. Chaque électrode est liée à un transmetteur (modèle 2100e ou M400, aussi de Mettler-Toledo) (Figure 11). Les valeurs apparaissent sur les afficheurs (directement visibles pour l'opérateur). Elles sont également transmises à l'ordinateur via l'automate (programmé et configuré avec le logiciel RSLogix5000) et affichées à l'écran via l'interface utilisateur.

Dans le programme RSLogix5000, des boucles de contrôle programmées permettent à l'automate de réguler le pH des cultures en jouant sur les débits entrants de CO₂ sous forme gazeuse (bullage CO₂). Ces commandes sont envoyées aux « GFC Mass Flow Controller » d'Aalborg (droite sur Figure 11). Le CO₂ est acheté chez la société Air Liquide, en bombonnes de 22.67 kg.

Biomasse

La concentration en biomasse et la dérivée de ce signal (proportionnel au taux de croissance de la biomasse en mode « batch ») dans quelques photobioréacteurs sont des quantités mesurées en temps réel par un capteur optique, soit le BugEye200 ou le BE2100 (un seul disponible de chacun), fabriqués par la compagnie BugLab (Figure 12). Les données de ces capteurs peuvent être utilisées (et traitées) pour fournir en temps réel des indicateurs de la productivité des photobioréacteurs. Selon le mode de production, le taux de croissance ou la productivité totale du système peuvent être généré(e)s et maximisé(e)s par la stratégie de commande extrémale implantée.

Toutefois, ces mesures optiques comportent certaines limitations, puisqu'elles ne mesurent pas directement la biomasse. En effet, la corrélation entre le signal optique et la

biomasse est linéaire si l'état physiologique de la culture est constant. Si cette condition n'est pas respectée, un biais de mesure peut s'installer. Un second appareil permettant de mesurer véritablement les concentrations cellulaires à partir d'échantillons de cultures doit être utilisé quotidiennement afin de s'assurer de la validité de la mesure. L'appareil est un « Z2 Coulter Particle Counter and Size Analyser » de la compagnie Beckman Coulter (Figure 23). Il sera présenté plus en détail dans la sous-section « Appareil laboratoire sec ». Enfin, il est également conseillé de vérifier l'état de la culture au microscope périodiquement en complément d'information.

Capteur de niveau

Le niveau de la culture, qui est directement lié au volume d'opération d'un photobioréacteur, est mesuré par un capteur de niveau LVU104 de la compagnie Omega (Figure 9). En récolte continue, le capteur de niveau et une pompe péristaltique, modèle 77521-40 de marque MasterFlex (Figure 13), fonctionnent en pair afin d'assurer le volume d'opération adéquat. Plus de détails sur le fonctionnement des appareils en récolte continue sont présentés dans la section 2.3.4 : Appareils supplémentaires pour la récolte continue.

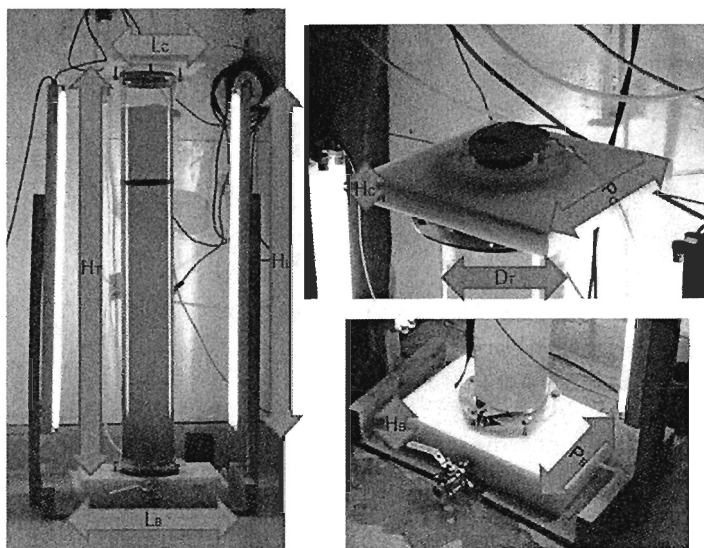


Figure 10 : Dimensions du photobioréacteur

Tableau 1 : Dimensions du photobioréacteur en cm

Tube		Base			Couvercle			Support fluorescent
H_T	D_T	H_B	L_B	P_B	H_C	L_C	P_C	H_L
130	17	10	53	30	3	30	30	117

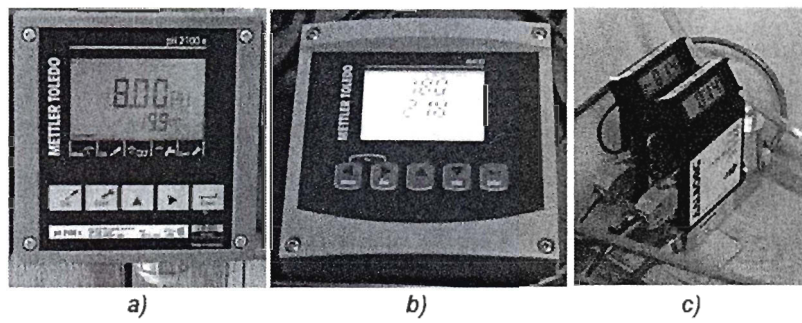


Figure 11 : a) transmetteur de pH pour le PBR_{EX1} b) transmetteur de pH pour le PBR_{EX2} et c) contrôleurs de flux de CO₂

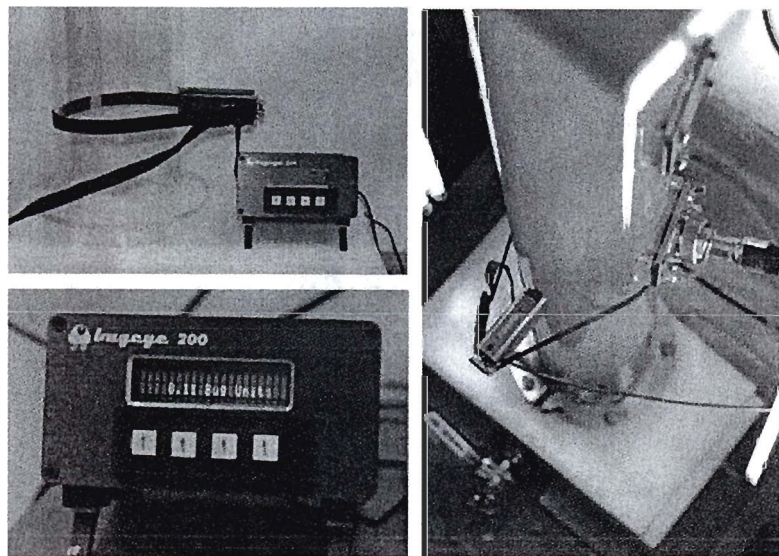


Figure 12 : Capteur de biomasse

Sonde à oxygène dissous

La concentration d'oxygène dissous d'une culture est mesurée en temps réel par une électrode InPro6800 de Mettler-Toledo. L'électrode est liée à un transmetteur (4100e aussi de Mettler-Toledo). Les valeurs sont affichées sur le transmetteur et donc directement visibles par l'opérateur, et sont transmises à l'ordinateur via l'automate et les logiciels RSLogix5000 et d'interface utilisateur.

Dans le programme RSLogix5000, une boucle de rétroaction régule l'oxygène dissous de la culture, en réglant le débit entrant de bullage d'air comprimé. Les commandes du débit entrant dans RSLogix5000 sont envoyées aux « GFC Mass Flow Controller » d'Aalborg.

2.3.3 Agitation par bullage d'air

Les conditions environnementales et la disponibilité des nutriments doivent favoriser la croissance de la culture dans son ensemble en tout temps. L'agitation de la culture est un paramètre important qui permet de respecter ces exigences, et ainsi obtenir un taux de production plus élevée (Becker 2008). L'agitation a donc plusieurs effets (Richmond 2004; Becker 2008) :

- dispersion uniforme des microalgues à l'intérieur du photobioréacteur,
- disponibilité de la lumière uniforme (en moyenne) pour les microalgues,
- limitation de la formation de dépôts (sédimentation) de microalgues au fond et sur les parois du photobioréacteur,
- distribution homogène des nutriments.

Une arrivée d'air comprimé est disponible directement dans le laboratoire (B-010) et le débit d'air envoyé au photobioréacteur est commandé soit manuellement ou automatiquement par un débitmètre (Correlated PTFE Flowmeter de chez Cole-Parmer).

2.3.4 Appareils supplémentaires pour la récolte continue

En mode de récolte continue, la gestion de la concentration de la biomasse et du volume de la culture se fait de façon automatique : une pompe péristaltique permet de vider le contenu du photobioréacteur afin de réguler la concentration en biomasse. Simultanément, une seconde pompe permet l'ajout en continu de milieu de culture au photobioréacteur afin de réguler le niveau (Figure 13). Dans le cadre de ce projet, les systèmes de récolte/remplissage des deux photobioréacteurs dans lesquels il est possible d'opérer en mode continu (dénommés PBR_{EX1} et PBR_{EX2}) diffèrent légèrement. Les différences sont présentées ci-dessous.

PBR_{EX1}

Le PBR_{EX1} est muni de deux pompes indépendantes 77521-40 de marque MasterFlex à vitesse variable (0 à 600 RPM), du capteur de biomasse Bugeye200 et d'un capteur de niveau LVU104 de la compagnie Omega. Chaque pompe agit donc indépendamment sur la récolte la biomasse et l'ajout du milieu de culture frais.

PBR_{EX2}

Le PBR_{EX2} est muni d'une seule pompe péristaltique à tête double (aussi modèle 77521-40 de marque MasterFlex) à vitesse variable (0 à 600 RPM) et du capteur de biomasse BE2100. Cette même pompe gère à la fois la récolte de la biomasse et l'ajout de milieu de culture frais, en écrasant simultanément les deux tuyaux d'entrée et de sortie du photobioréacteur. Elle régule directement la biomasse, et le niveau est indirectement régulé, car le débit de sortie est toujours (techniquement) égal au débit d'entrée.

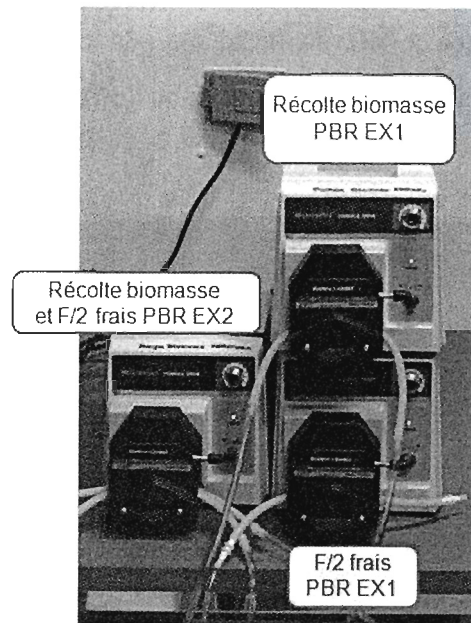


Figure 13 : Pompes péristaltiques modèle 77521 de Masterflex

2.3.5 Automate

L'automate est le « cerveau » qui permet de gérer de façon automatique l'opération du procédé. Le modèle utilisé est le Compact Logix L32E de la compagnie Allen-Bradley (Figure 14), et est composé de 5 blocs : 2 blocs d'entrées analogiques en tension ou en courant (configurable) 1769-IF8 (Figure 15), 1 bloc de sortie en tension (1769-OF8V), 1 bloc de sortie en courant 1769-OF8C et un bloc de relais 1769-OW16).

2.3.6 Système informatique

Le système informatique est constitué d'un ordinateur, d'un branchement réseau à l'automate, et des logiciels RSLogix5000 (logiciel de programmation de l'automate lui-même, qui permet le traitement des variables en temps réel à travers la stratégie de contrôle implantée), Microsoft Access (qui permet l'enregistrement des données) et FactoryTalk Transaction Manager (qui constitue le pont de communication entre les logiciels RSLogix5000 et Microsoft Access). Il est aussi possible de remplacer les logiciels

FactoryTalk Transaction Manager et Microsoft Access par le logiciel d'interface utilisateur InTouch, ce dernier facilitant l'archivage de données et l'affichage du statut d'opération du système.

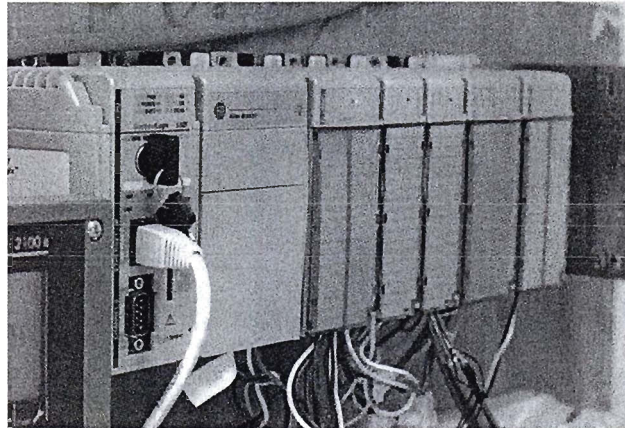


Figure 14 : Vue d'ensemble de l'automate Compact Logix L32E d'Allen-Bradley

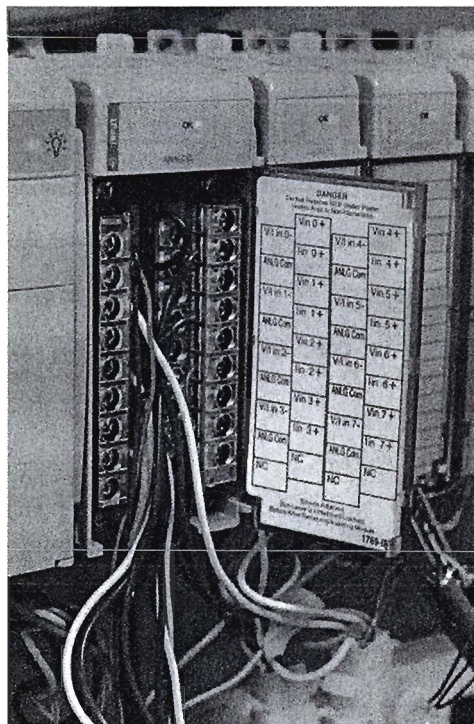


Figure 15 : Exemple de détails d'un bloc

2.3.7 Système d'approvisionnement en eau de mer

Les microalgues sont sensibles à la qualité de l'eau utilisée dans la préparation du milieu de culture. La présence occasionnelle de métaux, de champignons (fongi), de bactéries ou de zooplancton peut contaminer l'eau, ralentissant ou prenant le dessus sur la croissance des microalgues elles-mêmes. Le traitement de l'eau (puisée directement dans l'estuaire du St-Laurent) par un système de filtration (Figure 16 et Figure 17) est nécessaire pour le déroulement adéquat des expériences. Cette filtration se fait en deux étapes : une microfiltration et une ultrafiltration. La procédure complète de la préparation du milieu de culture se trouve à l'annexe II.

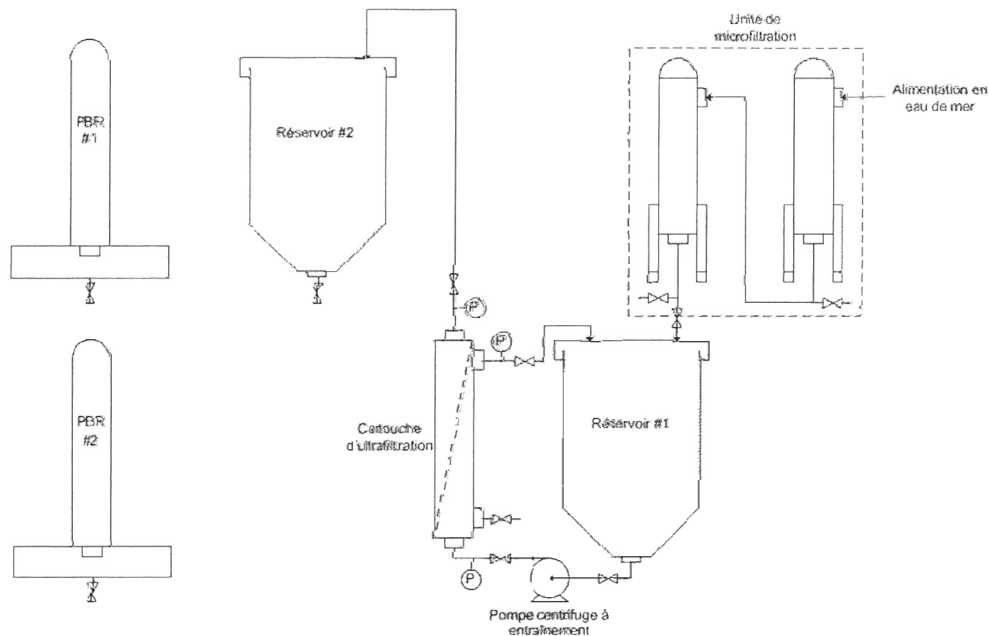


Figure 16 : Configuration du système d'approvisionnement en eau de mer pour la récolte en semi-continu

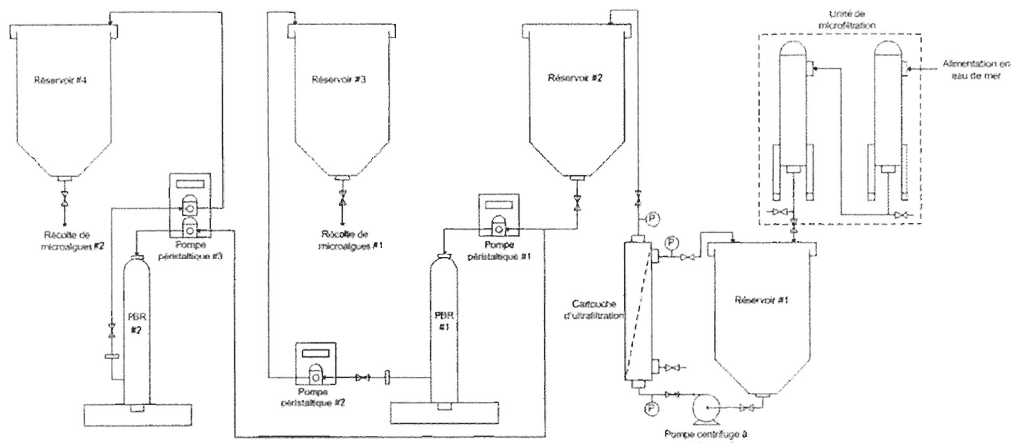


Figure 17 : Configuration du système d'approvisionnement en eau de mer pour la récolte en continu

Microfiltration

La microfiltration de l'eau de mer est la première étape de la production en mode continu de micro-algues. L'eau passe à travers une série de deux filtres de 10 et 1 μm respectivement, avant d'être stockée dans un réservoir d'une capacité de 500 L. Les filtres sont placés à l'intérieur des boîtiers X100B Bag Filter Housing (Figure 18) de la compagnie Filter Specialists inc..

Le choix des boîtiers se justifie également par de nombreux avantages :

- ils sont fabriqués en polypropylène, leur construction est donc légère et très résistante,
- ils offrent la possibilité d'utiliser des poches filtrantes ou bien des cartouches filtrantes en fonction de l'application,
- ils permettent à l'utilisateur de choisir le média filtrant et le type de filtre précisément en fonction de ses besoins.



Figure 18 : Boîtier convertible pour filtre

Ainsi, la première étape du processus est de retirer les particules solides qui pourraient être en suspension dans l'eau. Pour y arriver, les deux filtres sont placés en série (Figure 19). Ainsi, l'alimentation en eau de mer se fait par l'entrée du premier filtre, l'eau passe ensuite par le filtre de 10 μm afin de retirer les plus grosses particules solides en suspensions. Par la suite, l'eau ayant subi une première filtration est dirigée vers le deuxième filtre (celui de 1 μm).

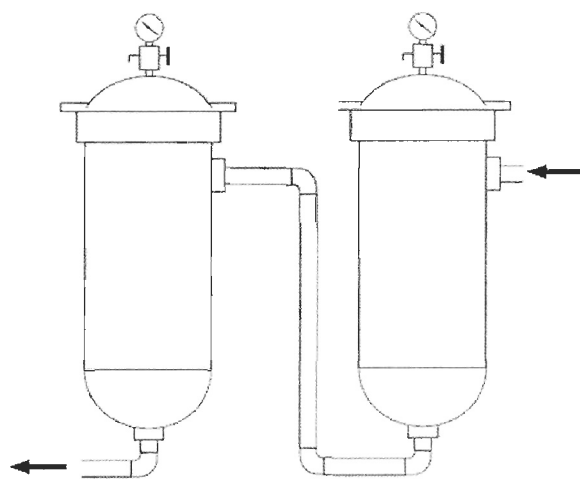


Figure 19 : Montage en série des deux boîtiers

Après être passée par les deux filtres, l'eau est ensuite stockée dans un réservoir afin qu'elle subisse une ultrafiltration.

Ultrafiltration

L'ultrafiltration est un procédé de séparation en phase liquide utilisant des membranes semi-perméables sous l'action d'un gradient de pression. Seules les particules ou molécules de taille supérieure à la dimension des pores ou seuil de coupure de la membrane sont retenues. L'ultrafiltration, sous l'effet de la pression, conduit donc à la séparation du produit en deux fractions (Figure 20) :

- le rétentat ou concentrat : fraction riche en molécules ou particules de taille supérieure au seuil de coupure de la membrane utilisée (ne passe pas),
- le perméat ou filtrat : fraction ayant traversé la membrane ne contenant donc que des molécules ou particules de taille inférieure au seuil de coupure.

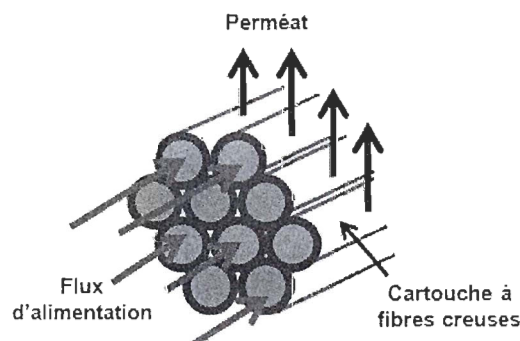


Figure 20 : Fonctionnement d'une membrane à fibre creuse

Lors de l'ultrafiltration (Figure 21), une couche de particules s'établit sur la membrane qui augmente la sélectivité de la filtration. Elle est limitée par la turbulence du flux tangentiel ce qui évite le colmatage. La cartouche sélectionnée est une CTG, 3'' HF-25-43-PM50 de la compagnie Koch Membrane Systems. Il s'agit d'une cartouche à fibres creuses de 3 pouces de diamètre. Celle-ci dispose d'une membrane ayant une surface de 25 pieds carrés et des

fibres ayant un diamètre de 43 millièmes de pouces. De plus, celle-ci offre une porosité de 40 kDa, qui permet de retirer les bactéries.

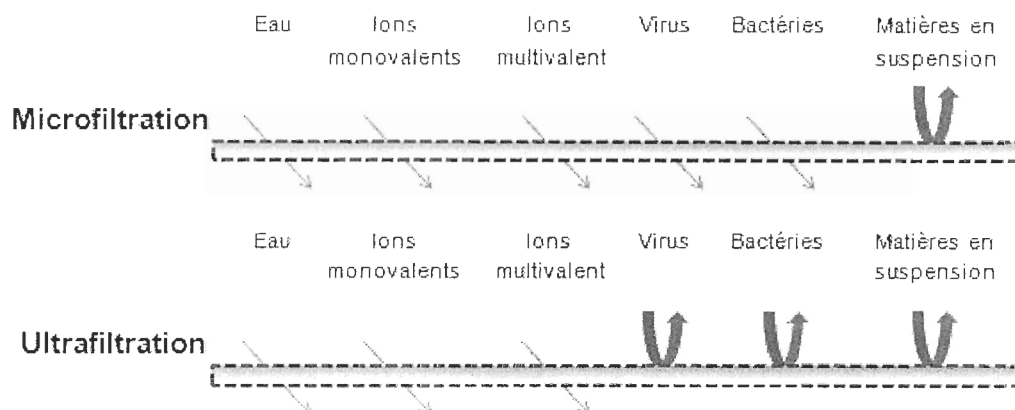


Figure 21 : Microfiltration et ultrafiltration d'eau de mer

Ainsi, après avoir été stockée dans un réservoir après la MF et ajouté de nutriments Fritz F/2 Algae Food part A et Fritz F/2 Algae Food part B de la compagnie FritzPet Products, une pompe magnétique Little Giant TE-7-MD-HC (Figure 22) est utilisée pour forcer le passage de l'eau dans la cartouche d'ultrafiltration. Le filtrat est alors acheminé vers un second réservoir de stockage avant d'être utilisé dans le photobioréacteur tandis que le concentrat est retourné vers le premier réservoir de stockage pour recommencer le cycle.

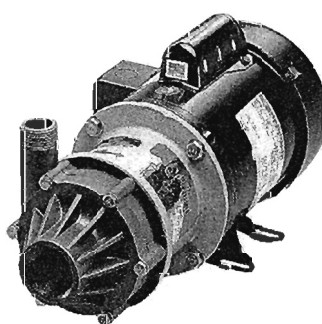


Figure 22 : Pompe centrifuge à entraînement magnétique (image provenant du manuel d'utilisateur de celle-ci)

2.4 APPAREILS DU LABORATOIRE SEC

En complément de l'instrumentation en ligne, l'utilisation de deux appareils hors-ligne permet de compléter l'information obtenue des photobioréacteurs. Ces derniers sont le compteur de particules (Z2 Coulter Particle Counter and Size Analyser) (section 2.4.1), le microscope (section 2.4.2) la sonde à pH de comptoir (section 2.4.3).

2.4.1 Compteur de particules

Cet appareil (Figure 23) est un compteur de particules électronique qui a comme fonction de déterminer le nombre et la grosseur des cellules (entre $1,5\mu\text{m}$ et $4\mu\text{m}$ pour *Nannochloropsis oculata*) dans un échantillon ($200\mu\text{L}$ de culture dans 20mL d'isoton). Le comptage est relatif aux limites réglées par l'utilisateur. Il est essentiel pour la calibration des capteurs de biomasse, et le suivi des mesures en cours de culture pour vérifier s'il y a présence de dérive. En effet, tel que mentionné plus tôt, ces capteurs permettent d'obtenir des mesures optiques reliées aux concentrations cellulaires, mais comme celles-ci peuvent être affectées par des changements physiologiques au niveau des cellules, leur seule mesure ne suffit pas.



Figure 23 : « Z2 Coulter Particle Counter and Size Analyser »

2.4.2 Microscope

Notons qu'il est également complémentaire de vérifier l'état des cultures au microscope afin de connaître leur état physiologique. Cette observation est notée au cahier de laboratoire pour compléter le suivi. Plus de détails au sujet du microscope sont abordés dans la sous-section « Observations au microscope (présence d'amas de cellules mortes ou de ciliés) ».

2.4.3 Sonde à pH de comptoir

Cette sonde permet de mesurer le pH des cultures (Figure 24) afin de s'assurer que les sondes insérées dans les photobioréacteurs fonctionnent correctement (vérification de la dérive possible des sondes). Une calibration à deux-points (pH 7 et pH 10) bimensuel de l'appareil est recommandée.

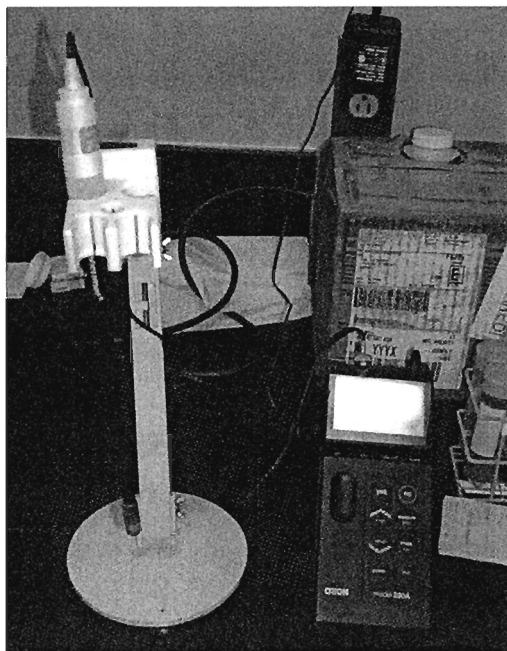


Figure 24 : Sonde à pH de comptoir

2.5 MANIPULATIONS ET ÉCHANTILLONNAGE

Cette section résume l'ensemble des procédures de manipulation, de maintenance et d'échantillonnage des photobioréacteurs utilisées au cours de ce projet. Elle est divisée en deux sous-sections :

- manipulations et entretiens : présente les principales procédures en ce qui concerne les opérations manuelles qui assurent le bon déroulement des expériences et les entretiens nécessaires des appareils de mesures (section 2.5.1),
- échantillonnage : présente les procédures d'échantillonnage utilisées en cours d'expérience (section 2.5.2).

2.5.1 Manipulations et entretiens

Préparation du milieu de culture (F/2)

Le milieu de culture frais doit être préparé au maximum à tous les deux jours en suivant la procédure présentée dans l'annexe II. Ceci permet de minimiser les risques d'une contamination prolongée du stock de nutriments envoyés aux cultures.

Entretiens du local

Les photobioréacteurs sont opérés dans un local qui doit être maintenu dans des conditions d'hygiène et d'ordre assez strictes. Toutes les personnes qui font des manipulations dans ce local doivent porter des gants, des lunettes protectrices et un sarrau.

- avant toute manipulation dans le local, un linge imbibé d'eau de javel à 220 ppm doit être passé sur les différentes surfaces de travail, ainsi que dans l'évier,
- le sol doit être nettoyé au minimum hebdomadairement avec de l'eau de javel 220 ppm.

Entretiens/nettoyage de la pompe centrifuge

Une pompe centrifuge est utilisée quotidiennement pour renouveler le milieu de culture dans le cadre des expériences en récolte semi-continue. Le nettoyage de la pompe, avant et après son utilisation, permet de minimiser les risques de contamination de la culture (voir annexe III pour la procédure de nettoyage).

Nettoyage des PBRs avant ensemencement

Le nettoyage, au HCl 10%, javel et savon, des photobioréacteurs se fait avant chaque ensemencement en suivant la procédure présentée à l'annexe IV.

Entretiens des systèmes de microfiltration et d'ultrafiltration

Le système de microfiltration doit être nettoyé après chaque préparation de milieu de culture (voir annexe V pour la procédure d'entretien du système de microfiltration et annexe VI pour la procédure d'entretien du système d'ultrafiltration).

Entretiens du bassin de stockage du milieu de culture frais préparé

Avant chaque période d'expérimentation (durée d'une semaine à quelques mois), le bassin est rempli d'eau de javel à 220ppm pendant une nuit pour décontamination.

Entretien du compteur de particules

Le nettoyage du compteur de particules électronique doit se faire mensuellement, en suivant la procédure dans l'annexe VII, afin de minimiser les erreurs de lecture.

Dilution du photobioréacteur opéré en récolte semi-continue

Lors de l'opération des cultures en mode semi-continu (avec *Nannochloropsis oculata*), les cultures sont ramenées à chaque jour à une concentration de $30 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$ (par récolte et dilution), et on les laisse croître jusqu'au lendemain. La portion ainsi récupérée à chaque jour constitue la production du système. Cette tâche journalière permet donc le suivi du taux de croissance des cellules (voir annexe VIII). Une mesure des concentrations est également prise avec le compteur de particules électronique, aux moments précédant et suivant l'étape de dilution.

Récolte du photobioréacteur opéré en mode continu

La gestion de la concentration des cultures en mode continu se fait automatiquement à l'intérieur des photobioréacteurs, mais les volumes tirés de ces derniers sont ramenés dans des contenants prévus pour la récolte, d'où l'on effectue plutôt la récolte. Ces derniers doivent être nettoyés quotidiennement, pour prévenir l'importance des contaminations, en suivant la procédure détaillée à l'annexe IX.

2.5.2 Échantillonnage et mesures

Échantillonnage des photobioréacteurs

Des échantillons de culture provenant de chaque photobioréacteur doivent être prélevés quotidiennement pour permettre le suivi des variables d'intérêt présentées plus tôt, en suivant la procédure de l'annexe X (dans le cas de la récolte semi-continue) ou de l'annexe XI (dans le cas de la récolte en continu).

Mesures du compteur de particules

Tel que mentionné plus tôt, les mesures du compteur de particules servent entre autres à déterminer le volume de culture qui doit être récolté du photobioréacteur en mode de récolte semi-continue, et à valider la bonne valeur du point d'opération en biomasse du photobioréacteur en mode continu. La procédure complète pour l'utilisation de cet équipement est présentée à l'annexe XII.

Utilisation sonde à pH (local A-09)

Lorsque le pH d'un photobioréacteur est réglé manuellement, le pH de la culture doit être mesuré en utilisant le pH-mètre de comptoir présenté plus tôt (situé dans le local du laboratoire sec). Cette mesure doit être faite au minimum quotidiennement en suivant la procédure de l'annexe XIII. Ce pH-mètre est également utilisé (selon la même procédure) pour vérifier s'il y a présence de dérive (ou non) sur les capteurs de pH en ligne installés sur les photobioréacteurs.

Observations au microscope (présence d'amas de cellules mortes ou de ciliés)

Des échantillons de culture doivent régulièrement être observés au microscope afin de s'assurer que la culture est en « bonne santé », soit dépourvue de ciliés et/ou d'amas de cellules. La présence de ciliés nuit gravement à la croissance de la culture, et constitue une espèce compétitrice pouvant prendre rapidement le dessus sur les populations de micralgues (Becker 2008; Hoff et Snell 2008). En ce qui concerne les amas de cellules (mortes), ils sont un bon indicateur de la santé de la culture. Une trop grande quantité d'amas de cellules peut indiquer différents problèmes, dont la mort de cellule, l'accumulation d'exopolysaccharides ou autres métabolites suite à un stress, etc.

Maintenant que les appareils et manipulations pour l'opération sur le système ont été présentés, la prochaine section aborde les étapes pour l'automatisation de ce dernier.

2.6 IDENTIFICATION DES BOUCLES DE BASE ET RÉGLAGE DES CONTRÔLEURS PI

Cette section présente l'identification et le réglage des boucles de contrôle (régulateurs PI) permettant la régulation du pH (section 2.6.1), du niveau (volume d'opération du photobioréacteur) (section 2.6.2) et de la concentration cellulaire (biomasse) (section 2.6.3).

2.6.1 Contrôle du pH

Des échelons sur le débit de CO_2 gazeux ont été effectués sur le système (à différentes concentrations d'opération, soit 3 $M_{cell} \cdot mL^{-1}$, 10 $M_{cell} \cdot mL^{-1}$ et 30 $M_{cell} \cdot mL^{-1}$ pour tenir compte de la non-linéarité), et les données des réponses sur le pH ont été récoltées puis traitées à l'aide du logiciel MATLAB. L'utilitaire *ident* de MATLAB (Figure 25) possède une bonne variété d'outils permettant l'identification des fonctions de transfert du système. La Figure 25 montre l'identification de la fonction de transfert du pH, à une concentration cellulaire de 10 $M_{cell} \cdot mL^{-1}$, utilisée comme point d'opération moyen de la culture (l'analyse des fonctions de transfert aux autres concentrations montrait que les différences avec ce point d'opération pouvaient être négligées). La forme choisie pour le modèle est de premier ordre, car la forme des réponses montre une cassure dans la dérivée de la réponse lors de l'application des échelons. L'amplitude du bruit étant négligeable sur les réponses, la forme considérée pour celui-ci est un bruit blanc directement en sortie. L'utilitaire *ident* a utilisé ces données pour identifier le procédé. À droite de la Figure 25 (« Model Output y1 »), le pH de la culture, qui varie dans le temps à cause d'échelons sur le débit de CO_2 est affiché. À gauche de la Figure 25 (« Data/model Info : P1 »), la fonction de transfert obtenue entre l'ajout de CO_2 gazeux et le pH est présentée (sur une base de temps en secondes) :

$$G_{pH}(s) = \frac{-0.057785}{1 + 506.65s} \quad (26)$$

avec des incertitudes de $\pm 0,003077$ sur le gain et $\pm 27,084$ sur la constante de temps. De plus, cette fenêtre répertorie les estimations des paramètres réels, et indique la fonction de perte ($\approx 0,0044$) et la valeur FPE (erreur de prédiction finale $\approx 0,0044$). Sur la Figure 26,

d'autres données expérimentales sont superposées sur le résultat de l'identification obtenu à la Figure 25 pour des fins de validation : les paramètres du procédé sont identiques, et de même pour la fonction de perte et la valeur FPE.

À l'aide de la méthode présentée dans Pomerleau et Poulin (2004), un premier réglage a été considéré, suivi d'un ajustement « fin » par essais-erreurs guidé par le tableau d'ajustement des paramètres (K_c et τ_i) fourni avec la méthode afin d'obtenir des réponses acceptables et « symétriques » le plus possible (réponse à un échelon positif le plus similaire possible à une réponse à un échelon négatif). Le contrôleur PI finalement implanté (sur une base de temps en secondes) est :

$$G_c(s) = \frac{K_c(1 + \tau_i s)}{\tau_i s} = \frac{-120(1 + 1500s)}{1500s} \quad (27)$$

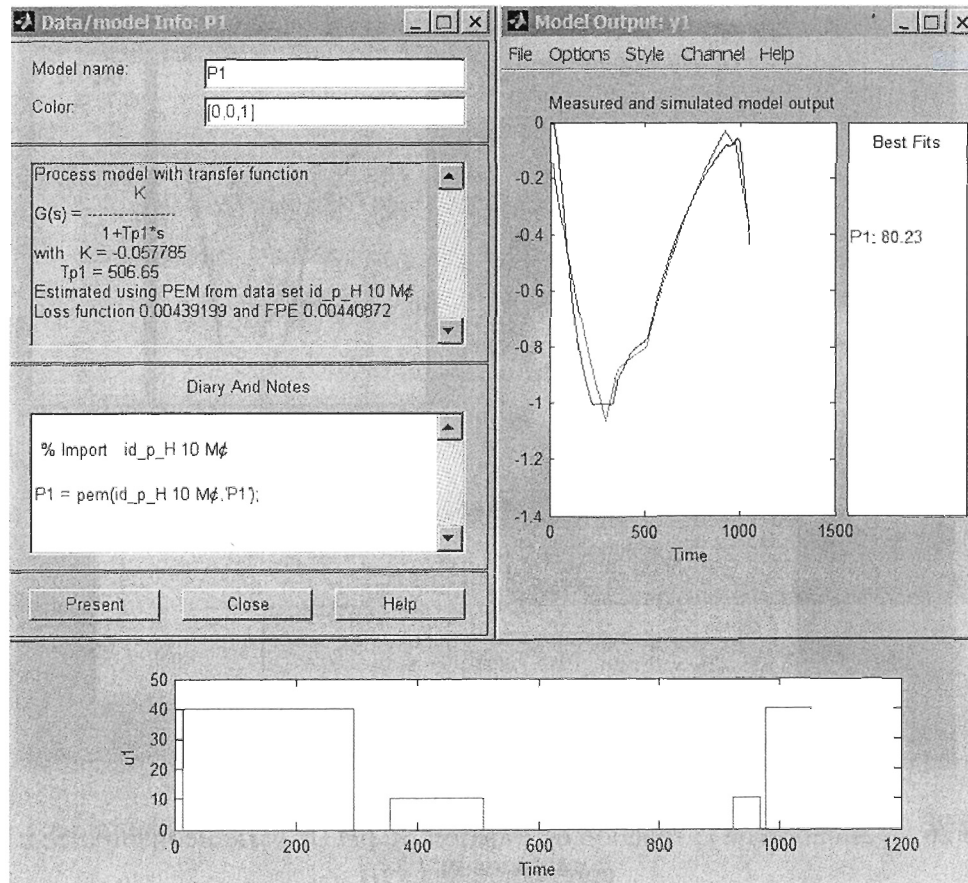


Figure 25 : Identification de la fonction de transfert du pH, à une concentration cellulaire de $10 \text{ M}_{\text{cell}} \cdot \text{mL}^{-1}$ (la variable manipulée u est la commande de CO_2)

Sur la Figure 27, on observe que les tests en boucle fermée permettent à la valeur du pH de rejoindre la consigne. On remarque que le temps de stabilisation est plus long lorsque le changement de consigne est positif, versus lorsqu'il est négatif. Cela est dû au fait que l'augmentation du pH se fait uniquement sous l'influence des activités métaboliques des cellules (variable manipulée en saturation à 0%) alors que l'impact sur le pH avec un débit de CO_2 non-nul est plus important. Néanmoins, tel que mentionné plus tôt, le réglage utilisé a été ajusté pour au moins avoir une forme de réponse (dépassement) la plus similaire possible dans les deux cas. De plus, Pour la sortie, ça vient du réglage modifié (si on n'annule pas la constante de temps, la réponse en boucle fermée va plutôt s'approcher d'un 2^e ordre)

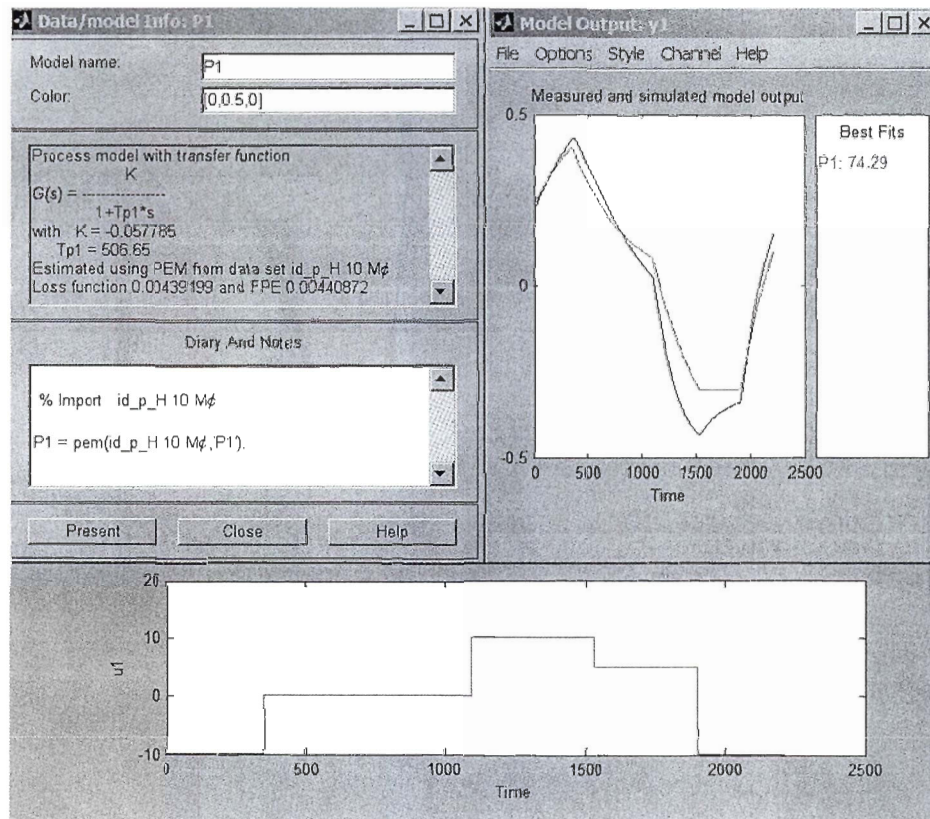


Figure 26 : Validation de la fonction de transfert du pH (la variable manipulée u_1 est la commande de CO_2)

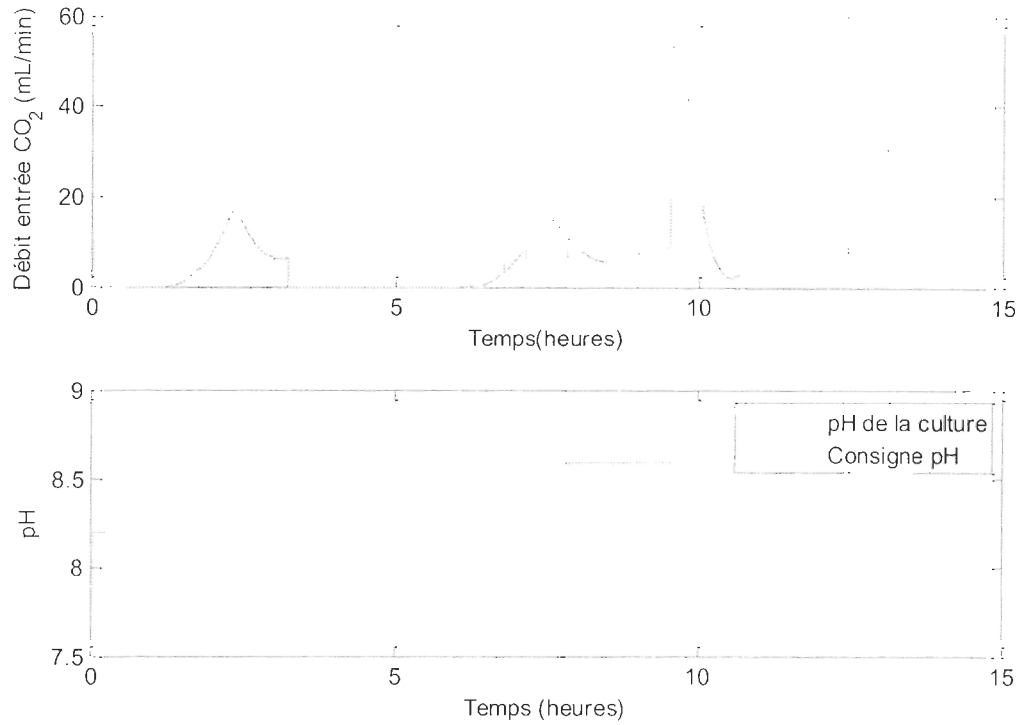


Figure 27 : PH en boucle fermée, à une concentration cellulaire de $10 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$

2.6.2 Contrôle du niveau

Une boucle de contrôle est implantée sur le niveau (

Figure 28) lorsque le système est opéré en mode continu afin de réguler le niveau (volume) de la culture. En assumant que la relation entre la commande de la pompe et le niveau de la culture est un intégrateur parfait, les valeurs des paramètres du contrôleur ont été calculées théoriquement à partir des dimensions du photobioréacteur, des informations sur le fonctionnement de la pompe péristaltique et de l'expression de la boucle fermée :

$$H(s) = \frac{G_c(s)G_p(s)}{1 + G_c(s)G_p(s)} = \frac{(\tau_i s + 1)}{\frac{\tau_i}{K_c K_p} s^2 + \tau_i s + 1} \Rightarrow \frac{(T_o s + 1)}{1 + 2\zeta \tau s + \tau^2 s^2}$$

On obtient donc les relations suivantes :

$$\tau_i = 2\zeta\tau$$

$$\frac{\tau_i}{K_c K_p} = \tau^2$$

Avec $\zeta = 0,707$ (pour limiter le dépassement), $\tau = 10$ secondes (raisonnable comme dynamique pour réguler le niveau de la culture) et $K_p = 0,003$ pouces·mL⁻¹ (calculé à partir des dimensions du photobioréacteur et des informations sur le fonctionnement de la pompe péristaltique). En résolvant on obtient :

$$\tau_i = 2\zeta\tau \Rightarrow \tau_i = 14$$

$$\frac{\tau_i}{K_c K_p} = \tau^2 \Rightarrow K_c = 44$$

Le contrôleur implanté est (base de temps en secondes) :

$$G_c(s) = \frac{K_c(1 + \tau_i s)}{\tau_i s} = \frac{44(1 + 14s)}{14s} \quad (28)$$

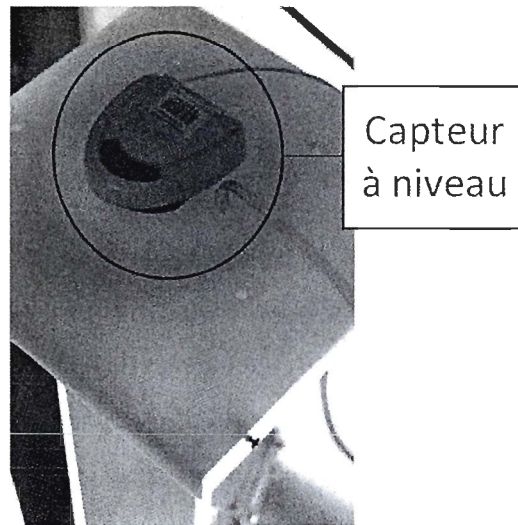


Figure 28 : Couverture de PBR_{EX1} en récolte continu

La Figure 29 montre que la boucle de régulation est performante, car le niveau reste stable autour de la consigne (47 pouces sont équivalents à 27L de volume d'opération). La présence de pics (entre 0,5 jour et 1 jour et entre 1,5 jours et 2 jours) est causée par des commandes à la pompe de récolte (Figure 13). L'activation de la pompe a comme effet de récolter la culture et par le fait même de diminuer le niveau de la culture contenue dans le photobioréacteur. La pompe de remplissage ajoute du milieu de culture lorsque le niveau est en dessous la consigne.

2.6.3 Capteur de biomasse

La dernière variable à réguler provient des capteurs de biomasse Bugeye200 (installé sur le PBR_{EX1}) et BE2100 (installé sur le PBR_{EX2}) (Figure 30). Un échelon sur la pompe de récolte est effectué sur le système, et les données des réponses sur la concentration cellulaire sont mesurées. Ensuite, les données sont comparées à des modèles sous Simulink© (Figure 31). La forme observée de la réponse suggère un modèle de procédé de type intégrateur pur avec délai. Le délai a été identifié sur la réponse, et le gain a été ajusté pour bien représenter la réponse temporelle obtenue. Le résultat de l'identification (base de temps en seconde, et le gain est en Mcell·mL⁻²) est donné par l'équation (29) :

$$G_{pX}(s) = \frac{-23}{s} e^{-710s} \quad (29)$$

Le retard de 710 secondes est dû au temps nécessaire pour que la culture soit diluée par l'ajout de milieu frais (dépourvu de microalgues), en moyenne. En effet, comme le débit de récolte est utilisé comme variable manipulée, celui-ci n'influence pas directement la concentration en biomasse : c'est bien via la boucle de régulation du niveau, qui active l'ajout du débit d'alimentation, qui a pour effet de diluer la culture.

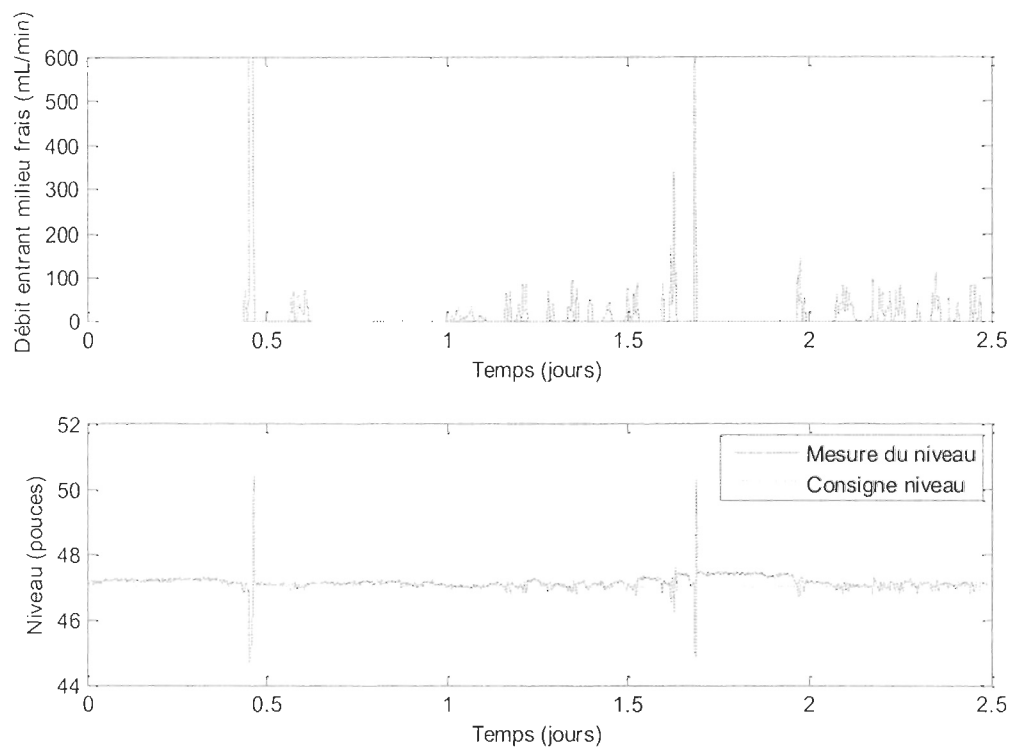


Figure 29 : Régulation du niveau de la culture (cas des deux pompes péristaltiques indépendantes)

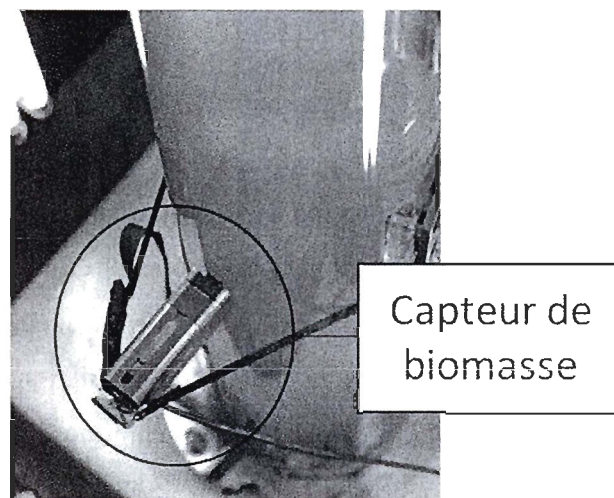


Figure 30 : Capteur de biomasse

Comme cette boucle agit sur un procédé intégrateur, et qu'il n'y a pas d'action négative, il y a généralement un dépassement sur ce niveau (par rapport à la consigne) et l'absence d'action négative empêche le niveau de rejoindre la consigne. Les paramètres de ce contrôleur ont été obtenus préalablement à ce projet, et ont donc été prises dans un rapport interne sur la mise en continu des systèmes (Fraboulet et al. 2010). À noter que le réglage a aussi comporté un ajustement fin des paramètres K_C et T_i (tableau de Pomerleau et Poulin, 2004) pour obtenir un meilleur comportement en pratique (base de temps en secondes) :

$$G_c(s) = \frac{K_c(1 + \tau_i s)}{\tau_i s} = \frac{-27(1 + 1100s)}{1100s} \quad (30)$$

La commande à la pompe péristaltique responsable de la récolte (que ce soit celle à tête simple ou celle à tête double) est utilisée comme variable manipulée pour réguler la concentration en biomasse. Comme il s'agit essentiellement de la même pompe et des mêmes tuyauteries, le réglage du contrôleur utilisé est le même dans ces deux situations.

Les résultats montrent que la concentration cellulaire du PBR_{EX1} (Figure 32) et la concentration cellulaire du PBR_{EX2} (Figure 33) rejoignent bien les consignes. On observe comme plus tôt que le temps de stabilisation est plus long lors d'un changement de consigne positif versus un échelon de consigne négatif. Cela est encore dû au fait que dans un sens, la valeur de la variable manipulée est en saturation (0%) dans l'attente d'une croissance des microalgues, alors que l'effet de la pompe est plus marqué pour vider le bioréacteur.

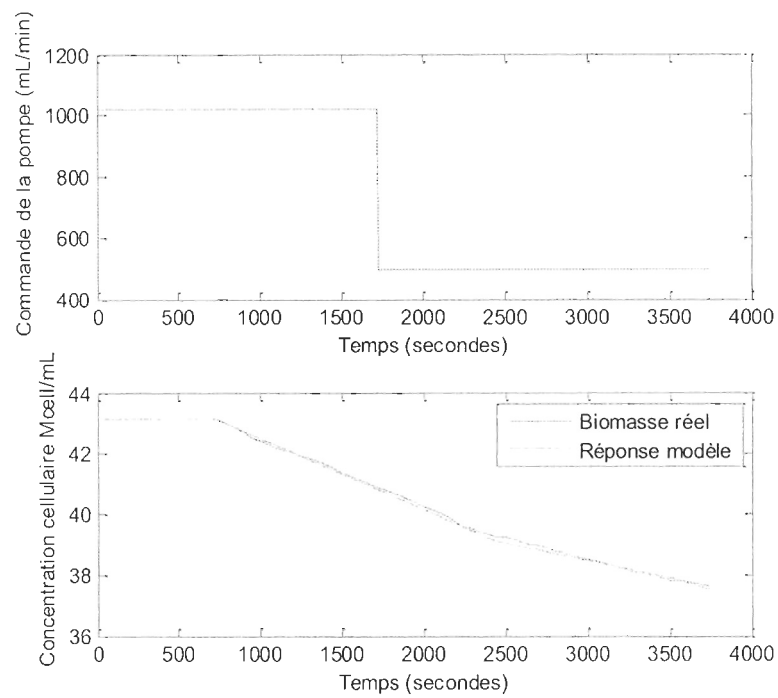


Figure 31: Récolte de la biomasse en boucle ouverte

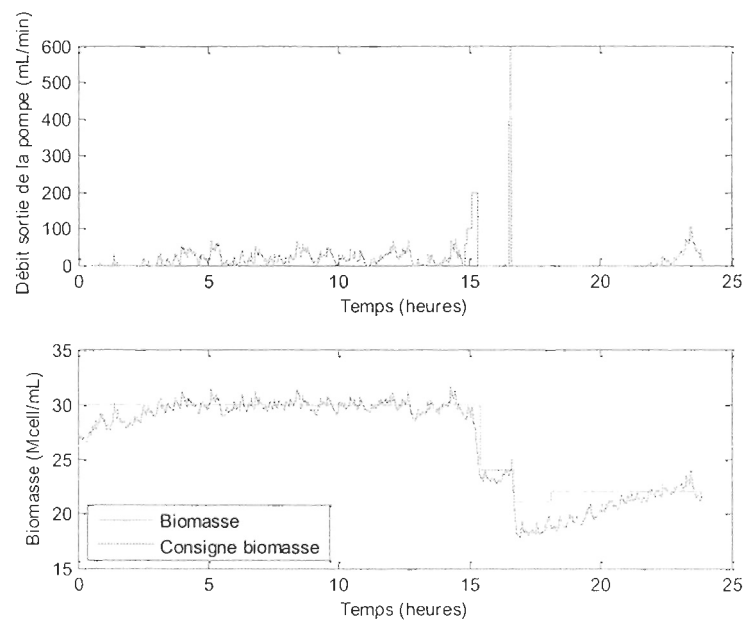


Figure 32 : Performance de la récolte en continu (deux pompes péristaltiques)

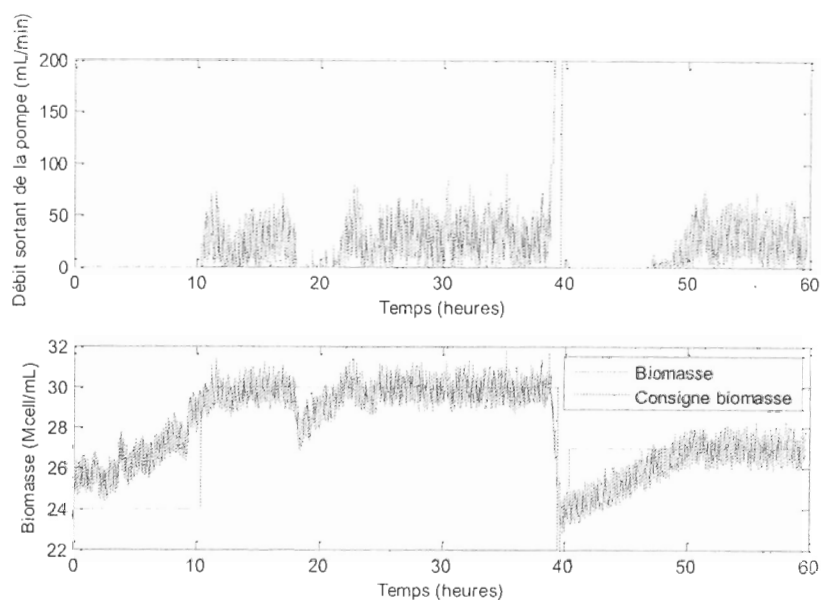


Figure 33 : Performance de la récolte en continu (pompe péristaltique à deux têtes)

2.7 CONCLUSION

Le but de ce chapitre était de présenter clairement les aspects techniques associés à la culture de microalgues réalisée dans le cadre de ce projet de maîtrise et de présenter l'instrumentation utilisée afin d'automatiser le procédé, soit la culture de *Nannochloropsis Oculata* en photobioréacteurs tubulaires clos éclairés par une source de lumière artificielle. Plus précisément, il a été présenté :

- les Étapes préparatoires à la production en photobioréacteur,
- le Système physique (photobioréacteurs, sondes, capteurs, transmetteurs, automate système informatique, système d'approvisionnement en eau de mer),
- les Appareils du laboratoire sec (compteur de particules et sonde à pH de comptoir),
- les manipulations et l'entretien (principales procédures en ce qui concerne les opérations manuelles et les entretiens nécessaires des appareils de mesures),

- l'échantillonnage (procédures d'échantillonnage utilisées en cours d'expérience),
- Identification des boucles de base et réglage des contrôleurs PI(pH, niveau et concentration cellulaire).

Afin d'assurer le bon déroulement des expériences, les aspects techniques associés à la culture de microalgues et à l'instrumentation disponible pour automatiser le système ont dû être maîtrisés, tel que démontré dans ce chapitre. En plus des résultats expérimentaux, des résultats numériques à obtenir en simulation sont prévus, afin d'aider au réglage des stratégies de commande avancées présentées plus loin dans ce mémoire (chapitre 5). Dans le prochain chapitre, les étapes de conception d'un simulateur d'une culture de *Nannochloropsis oculata* sera présentée (en passant par les modèles dynamiques des bioprocédés de façon plus générale, et des spécificités des microalgues autotrophes).

CHAPITRE 3

MODÉLISATION DE LA PRODUCTION DE MICROALGUES

3.1 INTRODUCTION

Dans ce chapitre, les lois physiques gouvernant les équilibres et les dynamiques de croissance, de consommation et de production de certaines molécules seront utilisées pour décrire le comportement de l'espèce de microalgues *Nannochloropsis oculata* (en mode de récolte semi-continu et continu) en photobioréacteur. Ensuite, ces notions seront utilisées pour construire un simulateur sous Simulink© (MATLAB©). L'objectif du simulateur étant d'éprouver l'efficacité et les performances des algorithmes de contrôle et d'optimisation rapidement en imitant le comportement du système physique.

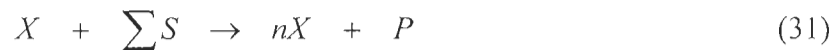
Le chapitre, divisé en quatre parties, débute par une brève exposition des principes de modélisation applicables aux bioprocédés (section 3.2). Il est suivi d'une section traitant du développement de modèles généraux applicables à des cultures de microalgues autotrophes en photobioréacteur (section 3.3). Les étapes du développement de cette dernière mènent au résultat spécifique (section 3.4), soit le modèle développé pour le cas précis de *Nannochloropsis oculata* reflétant le taux de croissance spécifique en fonction de paramètres physiques tels les sels nutritifs dissous, l'oxygène dissout, le pH, et l'accumulation de toxines excrétées par la biomasse. Dans la quatrième et dernière section de ce chapitre, ce modèle est utilisé pour développer et valider (entre autres à l'aide de données expérimentales) un simulateur sous Simulink© (section 3.5).

3.2 CARACTÉRISTIQUES DES BIOPROCÉDÉS

3.2.1 Schématisation réactionnelle du procédé

La schématisation présentée dans cette sous-section est la base du modèle spécifique (section 3.4). Dans les sections qui suivent (sections 3.2 et 3.3), les paramètres liés à chacune des réactions initialement identifiées seront présentés.

Dans le cas où les facteurs environnementaux (pH, température, etc.) favorisent la croissance de la culture, des nutriments (p.ex. : sources de carbone, azote, oxygène, etc.) sont consommés par les microorganismes pour produire leur énergie et faire la biosynthèse. La biosynthèse définit l'action d'une cellule mère qui se divise en deux cellules sœurs (réaction autocatalytique) (Prescott et al. 2003). De plus, des métabolites issus des réactions enzymatiques associées à la croissance cellulaire ou à la consommation d'un métabolite particulier, sont produits. Par exemple, la pénicilline est un métabolite issu de la reproduction du champignon microscopique *Penicillium notatum*. La schématisation réactionnelle de la croissance seule d'un microorganisme (en monoculture) est décrite par :



où X représente la biomasse, S représente l'ensemble des nutriments, n est relié au taux de croissance et P représente l'ensemble des produits (transformation de la matière par les microorganismes). D'autres réactions liées à d'autres portions du métabolisme peuvent être représentées. C'est le cas entre autres pour le métabolisme hétérotrophe vs autotrophe, la maintenance vs la croissance cellulaire et la mort cellulaire. Toutefois, dans le cadre de ce mémoire, on s'en tiendra principalement aux modèles liés à des réactions de croissance, car l'objectif du projet se limite à l'optimisation de cette dernière.

3.2.2 Phases de croissance d'une culture de microorganismes au sein d'un bioréacteur

Une culture de microorganismes laissée à elle-même de façon prolongée dans une enceinte fermée se comportera selon les cinq phases de développement suivantes (Figure 34) :

1. phase de latence (« Lag ») : adaptation aux conditions environnementales,
2. phase de croissance exponentielle (« Exponential ») : reproduction optimale des cellules,
3. phase de croissance linéaire (« Deceleration ») : ralentissement progressif de la croissance,
4. phase stationnaire ou plateau (« Stationary ») : arrêt de la croissance,
5. phase de décès (« Death or Decline ») : mort progressive de la culture (absence de nutriments).

Lorsqu'il est visé de produire la biomasse en elle-même, les microalgues sont généralement récoltées vers la fin ou en plein cœur de leur phase de croissance exponentielle, où elles sont encore bien en vie et conservent l'ensemble de leurs propriétés fondamentales. Ensuite, une seconde étape (ou phase) de procédé peut être envisagée (ex. : enrichissement en molécules d'intérêt), ou tout simplement la récolte s'il est désiré d'utiliser la biomasse vivante comme produit final.

La prochaine sous-section entame le développement des modèles dynamiques de la croissance d'une population de microorganismes en bioréacteur en se basant sur la schématisation réactionnelle présentée à la section 3.2.1 et les phases 2 à 4 de la courbe de croissance normale (Figure 34), soit la portion utile du comportement des cultures aux fins du présent projet.

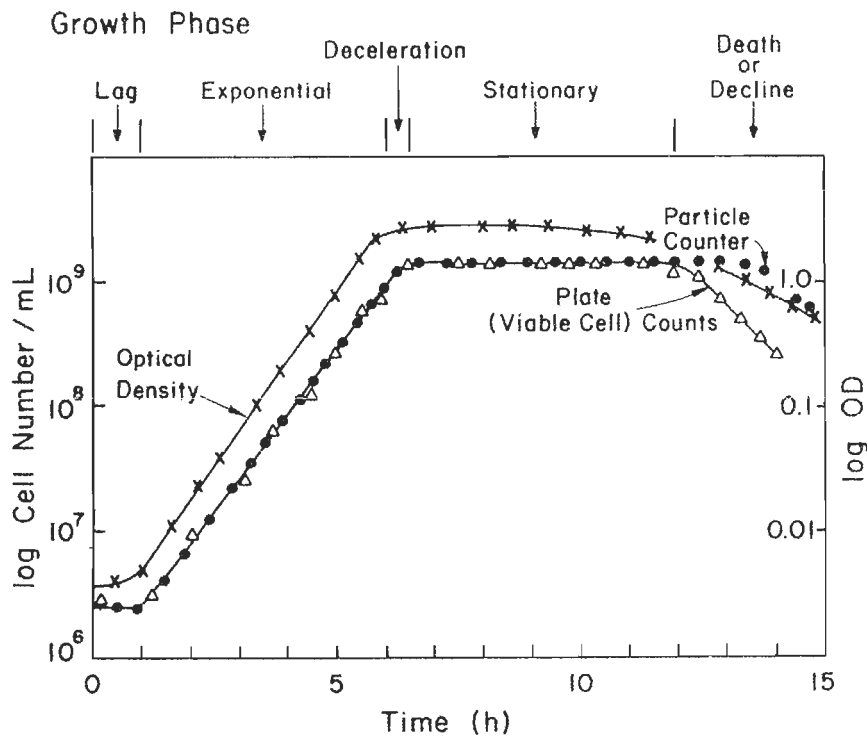


Figure 34 : Courbe typique de croissance d'une population de microorganismes (Shuler et Kargi 2002)

3.2.3 Modèles de la dynamique de croissance de microorganismes en bioréacteur

Tout d'abord, par définition, un bioréacteur est un réservoir particulier dans lequel plusieurs réactions biologiques se produisent simultanément, telles la multiplication des microorganismes (p. ex. : microalgues, champignons microscopiques, levures, bactéries et cellules animales) afin d'obtenir un produit d'intérêt qui peut être la biomasse en elle-même ou un métabolite particulier (p.ex. : pénicilline), ou la dégradation de certaines molécules (détoxification, digestion, etc.). Ces réactions biologiques peuvent être sommairement classifiées en deux catégories (Becker 2008) : (1) réactions de croissance microbienne et (2) réactions enzymatiques catalysées (ou biotransformations).

Afin de prédire le comportement d'une culture dans diverses situations, des modèles mathématiques peuvent être obtenus et implantés dans des simulateurs qui, couplés à des méthodes d'analyse des systèmes dynamiques, sont des outils forts intéressants. Ils

permettent notamment de résoudre des problèmes liés à la conception de bioréacteurs et à l'optimisation de bioprocédés (Bastin et Dochain 1990). Dans cette sous-section, un des objectifs est d'introduire les modèles classiques utilisés pour décrire la croissance d'une seule population de microorganismes. Par la suite, ces modèles seront adaptés pour des cultures ayant des comportements plus complexes. À cet effet, différents modèles pertinents pour décrire la cinétique d'un taux de croissance spécifique seront exposés. Pour finir, on présentera la structure générale du modèle d'états généralement utilisée pour la description des bioprocédés dans des bioréacteurs.

Généralités liées à la croissance d'une population de microorganismes en bioréacteur

Cette section vise à jeter les bases de la modélisation applicable à la dynamique de croissance d'une population simple de microorganismes dans un bioréacteur pouvant être alimenté en milieu frais par un débit F_{in} et vidé par un débit F_{out} sans restriction sur la façon dont varient ces débits (Figure 35). Dans le bioréacteur, on assume que :

- la croissance est la principale réaction biologique,
- la composition du contenu du bioréacteur est homogène (CSTR),
- la croissance est uniforme au sein du bioréacteur,
- La maintenance et la mort cellulaire sont négligeables.

Afin de demeurer dans un cas simple, on considère également que la croissance des microorganismes au sein du bioréacteur de la Figure 35 est fonction d'un seul substrat. On se basera ensuite sur les principes de conservation de la matière (Bastin et Dochain 1990) pour établir les modèles.

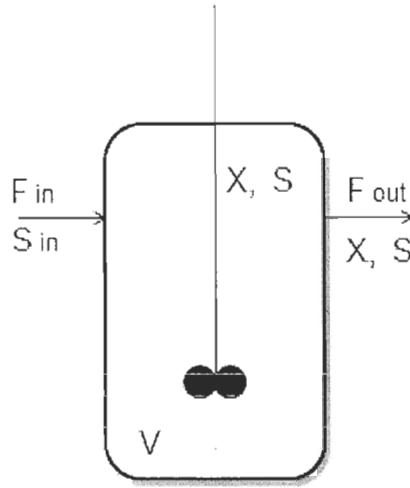


Figure 35: Bioréacteur avec flexibilité d'opération

La première variable à considérer dans le bioréacteur est le volume V (unités de volume). Sa dynamique, en considérant l'impact des débits illustrés à la Figure 35, est représentée par:

$$\frac{dV}{dt} = F_{in} - F_{out} \quad (32)$$

où F_{in} et F_{out} sont des débits volumiques (unité de volume par unité de temps), d'entrée et de sortie tels qu'illustrés à la Figure 35.

La dynamique de la biomasse fait intervenir la croissance elle-même et la vidange de la biomasse par le débit de sortie F_{out} . En y appliquant le principe de conservation de la masse, on obtient :

$$\frac{d(VX)}{dt} = X \frac{dV}{dt} + V \frac{dX}{dt} = \mu VX - F_{out}X \quad (33)$$

où X est la concentration en microorganismes dans le bioréacteur (nombre de cellules ou masse nette par unité de volume), qui est la même dans le débit de sortie, et μ est le taux de croissance (unités de temps⁻¹).

La dynamique du substrat fait intervenir la consommation de ce dernier par les microorganismes, l'ajout de milieu frais par le débit d'entrée et sa vidange par le débit de sortie. On obtient alors :

$$\frac{d(VS)}{dt} = S \frac{dV}{dt} + V \frac{dS}{dt} = -k_s \mu V X + F_{in} S_{in} - F_{out} S \quad (34)$$

où S est la concentration en substrat, k_s est un coefficient de rendement (sans unité) de conversion du substrat en nouvelle biomasse, S_{in} est la concentration de substrat dans le milieu frais en entrée et $-k_s \mu X$ est le terme net de consommation du substrat.

Lorsque la biomasse croît sur un substrat unique, et que les seules variables d'intérêt sont le volume, la biomasse et le substrat lui-même, les équations (32), (33) et (34) complètent le modèle de base applicable de façon générale à plusieurs modes d'opération. Les sections suivantes présentent plus spécifiquement les modes semi-continu « batch » et continu, lesquels sont d'intérêt pour la suite du mémoire.

Mode semi-continu (ou mode « batch »)

Le débit entrant (F_{in}) et le débit sortant (F_{out}) d'un bioréacteur opéré en mode semi-continu sont nuls. En effet, le récipient est initialement rempli avec du milieu de culture et une faible concentration de microorganismes. Ainsi, le modèle dynamique devient :

$$\frac{dV}{dt} = 0$$

$$\frac{dX}{dt} = \left(\mu - \frac{F_{out}}{V} \right) \cdot X \xrightarrow{F_{out}=0} \mu X \quad (35)$$

$$\frac{dS}{dt} = -k_s \mu X + \left(\frac{F_{in}}{V} S_{in} - \frac{F_{out}}{V} S \right) \xrightarrow{F_{in}=F_{out}=0} -k_s \mu X \quad (36)$$

Mode continu

Dans ce mode d'opération, le bioréacteur est continuellement alimenté avec du milieu de culture frais et la biomasse est récoltée en continu. Le débit entrant F_{in} et le débit sortant F_{out} sont égaux. Ainsi, le volume est constant. Afin de reformuler nos équations d'une façon plus pratique, on introduit D le taux de dilution (unité de temps⁻¹) (Bastin et Dochain 1990) particulièrement utilisé dans les modèles de bioréacteurs opérés en mode continu :

$$D = \frac{F}{V} \quad (37)$$

avec $F_{in} = F_{out} = F$. Les trois équations vues précédemment deviennent :

$$\frac{dV}{dt} = 0$$

$$\frac{d(VX)}{dt} = \mu VX - FX \Rightarrow \frac{dX}{dt} = (\mu - D) \cdot X \quad (38)$$

$$\frac{d(VS)}{dt} = -k_s \mu VX + FS_{in} - FX \Rightarrow \frac{dS}{dt} = -k_s \mu X + D(S_{in} - S) \quad (39)$$

Bien que l'on puisse se limiter aux modèles précédents dans certaines situations, la croissance d'une culture de microorganismes est en réalité beaucoup plus complexe que les modèles précédents, et de nombreuses réactions biologiques (divers métabolismes de croissance, de production de métabolites, etc.) se produisent dans une même culture. Afin que le modèle soit plus conforme au système physique présenté au chapitre 3 (qui est réellement visé à être modélisé plus loin dans le présent chapitre), les dynamiques de formation des métabolites importants, de l'oxygène dissout et du dioxyde de carbone seront prises en compte. Les dynamismes de formation de métabolites importants (polysaccharides, biogaz, (bio)éthanol, pigments, lipides (Mairet et al. 2010; Mairet et al. 2011), etc.) pourraient être tenus en compte, mais ce ne sera pas le cas dans le cadre de ce projet de maîtrise. De nouvelles équations de dynamique de croissance seront donc présentées dans les trois sous-sections qui suivent, permettant de tenir compte de ces facteurs.

Formation de métabolites

Dans bien des cas, un microorganisme est cultivé non pas dans le but de produire sa biomasse elle-même, mais plutôt afin de produire un métabolite d'intérêt particulier (aussi appelé produit). Ce dernier peut être soit soluble dans le milieu culture (produit excrété sous forme liquide), soit sous forme gazeuse (ex. : biogaz ou autre produit plus volatil) ou sous forme intracellulaire (ex. : lipides, composantes structurelles particulières, pigments, etc.). Dans le cas présenté ci-dessous, on s'intéresse aux produits dont la formation est associée à la croissance et à la modélisation de leur dynamique de formation. En appliquant le même principe utilisé plus tôt de conservation de la masse, on obtient la forme générale de modèle suivante pour un produit P quelconque :

$$\frac{d(VP)}{dt} = P \frac{dV}{dt} + V \frac{dP}{dt} = \nu XV - F_{out}P - Q(P)V \Rightarrow \frac{dP}{dt} = \nu X - D \cdot P - Q(P) \quad (40)$$

où P est la concentration du produit sous forme dissoute, $Q(P)$ est un débit de sortie massique du même produit P sous forme gazeuse, lié à une dynamique de dégazage du bioréacteur (unité de masse·unité de temps⁻¹), ν est le taux de production spécifique du produit P , et νX est le taux net de formation du produit P par la biomasse X . Dans certains cas, la concentration du produit P sous forme dissoute demeure négligeable car ce dernier est très vite évaporé sous forme gazeuse. Dans un tel cas, on obtient :

$$0 = \nu X - Q(P) \Rightarrow Q(P) = \nu X \quad (41)$$

Dans un cas où ν est entièrement associé à la croissance μ ((1) sur Figure 36), on peut remplacer son expression par :

$$\nu = k_\nu \mu \quad (42)$$

où k_ν est un coefficient de « rendement » de conversion, associé à la croissance de la biomasse X . Dans d'autres cas, on introduira un terme ρ de taux de production spécifique non-associé à la croissance μ . En pratique, le taux spécifique de production ν peut être partiellement indépendant ($\nu = k_\nu \mu + \rho$) ou complètement indépendant de la croissance μ ((2) et (3) sur Figure 36).

Rôles de l'oxygène dissous

En processus de fermentation aérobie, les microorganismes utilisent l'oxygène afin de se reproduire ou de catalyser diverses réactions biologiques. Dans certains cas de cellules végétales (telles les microalgues), la croissance peut cependant être inhibée par une présence trop importante d'oxygène (Becker 2008), et ce, en particulier en présence de lumière lorsque la photosynthèse est favorisée. Au-delà d'une certaine concentration, l'oxygène dissout peut donc jouer le rôle d'un produit « toxique », ou du moins, inhibiteur de croissance. La dynamique liée à la concentration d'oxygène dissout dans un bioréacteur est obtenue similairement aux situations précédentes, en appliquant les principes de la conservation de masse et de la loi de Henry (phénomène de dégazage). En faisant intervenir la production (ou consommation selon le cas) d'oxygène par la biomasse, l'ajout d'oxygène et son dégazage par un débit de gaz en entrée au bioréacteur, et la vidange de ses concentrations dissoutes via le débit de sortie, la structure générale du modèle (en mode continu ou en mode « batch » lorsque $D = 0$) devient :

$$\begin{aligned} \frac{d([DO] \cdot V)}{dt} &= [DO] \frac{dV}{dt} + V \frac{d[DO]}{dt} = (\pm)K_{DO0} \cdot \mu \cdot X \cdot V + K_{DO1} F_{bulletot} ([DO]_C - [DO]) - F_{out} [DO] \\ \Rightarrow \frac{d[DO]}{dt} &= (\pm)K_{DO0} \cdot \mu \cdot X + K_{DO1} Q_{bulletot} ([DO]_C - [DO]) - D[DO] \end{aligned} \quad (43)$$

avec $[DO]$ la concentration d'oxygène dissout, $Q_{bulletot}$ débit de gaz total envoyé au bioréacteur, $[DO]_C$ la concentration de saturation d'oxygène (liée à la concentration en oxygène dans le gaz d'entrée), K_{DO0} et K_{DO1} des constantes associées respectivement à la dynamique des échanges de masse gazeuse et de production d'oxygène associée à la croissance des microalgues. Le terme $K_{DO1} Q_{bulletot} ([DO]_C - [DO])$, obtenu en se basant sur le raisonnement de la loi de Henry pour la modélisation de dynamique de transfert liquide-gazeux, représente le taux de transfert d'oxygène entre le milieu de culture dissout et l'environnement extérieur à la culture. Le terme $(\pm)K_{DO0} \cdot \mu \cdot X$ représente soit la

consommation d'oxygène (en fermentation aérobie, K_{DO0} est négatif), soit la production d'oxygène (en photosynthèse, K_{DO0} est positif) par les microalgues.

Les rôles du dioxyde de carbone dissous

L'inclusion d'un débit gazeux de CO_2 (bullage) en entrée d'un bioréacteur peut aider à augmenter le taux de croissance de microorganismes autotrophes (Richmond 2004). En effet, ce flux permet (1) de fournir le CO_2 nécessaire afin que les microalgues puissent réaliser la photosynthèse (Becker 2008) et (2) de jouer sur le pH d'une culture (action régulatrice), celui-ci ayant tendance à augmenter rapidement sans une telle addition supplémentaire de CO_2 (Richmond et Grobbelaar 1986). Celui-ci a une influence acidifiante sur le milieu de culture via le système des carbonates (Copin-Montegut 2002). La dynamique du dioxyde de carbone dans un bioréacteur, obtenu en appliquant les mêmes principes de conservation de la masse et de la loi de Henry (en faisant intervenir les mêmes phénomènes que plus tôt dans le cas de l'oxygène dissout, et où D est le taux de dilution en mode continu, que l'on pose égal à zéro en mode « batch ») est représentée par :

$$\begin{aligned} \frac{d([CO_2] \cdot V)}{dt} &= [CO_2] \frac{dV}{dt} + V \frac{d[CO_2]}{dt} = K_{CO_2,1} F_{bulletot} ([CO_2]_C - [CO_2]) - K_{CO_2,0} \mu X \cdot V - F_{out} [CO_2] \\ \Rightarrow \frac{d[CO_2]}{dt} &= K_{CO_2,1} Q_{bulletot} ([CO_2]_C - [CO_2]) - K_{CO_2,0} \cdot \mu \cdot X - D[CO_2] \end{aligned} \quad (44)$$

avec $[CO_2]$ la concentration de dioxyde de carbone dissous, $[CO_2]_C$ la concentration de saturation de dioxyde de carbone (liée à la concentration en dioxyde de carbone dans le gaz d'entrée), $K_{CO_2,1}$ et $K_{CO_2,0}$ des constantes respectivement associées à la dynamique des échanges de masse gazeuse et de la consommation de dioxyde de carbone associée à la croissance. Le terme $K_{DCO_2,1} Q_{bulletot} ([CO_2]_C - [CO_2])$, obtenu en se basant sur le raisonnement de la loi de Henry pour la modélisation de la dynamique de transfert liquide-gazeux, représente le taux de transfert de dioxyde de carbone entre le milieu de culture dissout et

l'environnement extérieur à la culture. Le terme $K_{CO_2}\mu X$ représente la consommation de dioxyde de carbone (via la photosynthèse) par les microalgues.

L'ensemble des variables ayant une influence importante sur la croissance des microalgues ayant été présenté, leur apport individuel au taux de croissance plus global (communément appelé « taux de croissance spécifique ») sera présenté dans la sous-section suivante.

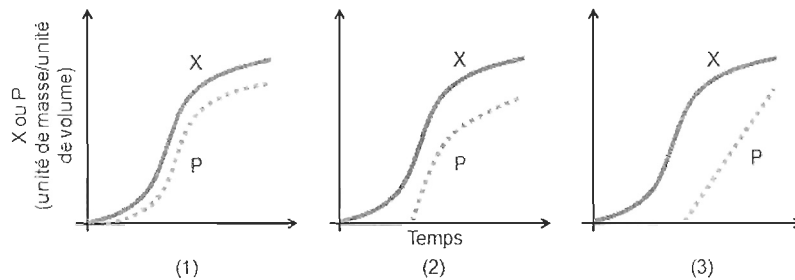


Figure 36 : Dépendance de la formation de produit, (1) entièrement, (2) partiellement et (3) indépendante.

Taux de croissance spécifique

D'après Bastin et Dochain (1990), plusieurs expériences biochimiques à travers les années ont montré que μ , le taux de croissance spécifique, varie dans le temps à cause de l'influence de nombreux facteurs physico-chimiques et biologiques, notamment :

- S la concentration d'un substrat,
- X la concentration en biomasse,
- P la concentration d'un produit,
- Le pH,
- T La température,
- $[DO]$ la concentration en oxygène dissout,
- I l'intensité lumineuse,

- IC des inhibiteurs de croissance microbienne.

Le taux de croissance d'une culture est représenté par le produit des apports individuels de ces quantités au taux de croissance spécifique (Bastin et Dochain 1990) :

$$\mu(t) = \mu(S) \cdot \mu(X) \cdot \mu(P) \cdot \mu(\Gamma) \cdot \mu([DO]) \cdot \mu(pH) \cdot \mu(I) \cdot \mu(IC) \dots$$

Modèles cinétiques des taux de croissance spécifiques

La forme la plus commune de modèle pour un taux de croissance en fonction d'une variable ξ quelconque est le modèle Monod (Monod 1942) :

$$\mu(\xi) = \frac{\mu_{\max} \xi}{K_M + \xi} \quad (45)$$

où ξ est une variable d'influence quelconque (ou sa concentration), μ_{\max} est le taux de croissance maximal observé chez l'espèce d'intérêt (notamment lorsque $\xi \gg K_M$) et K_M est la constante de saturation (modèle Michaelis-Menten), soit la valeur de ξ lorsque $\mu(\xi)$ vaut 50% de μ_{\max} . La fonction est illustrée à la Figure 37. À la base, ce type de modèle était utilisé pour décrire la cinétique de réactions enzymatiques (Michaelis et Menten 1913), mais a été repris par Monod pour décrire avec succès la dynamique de croissance de divers microorganismes.

Ce modèle (comme tous les modèles) a bien entendu ses limites, et permet de bien décrire un phénomène de croissance relié à la présence de la variable ξ lorsque :

- cette variable est nécessaire à la croissance à une concentration minimale,
- cette variable n'est pas inhibitrice (même à concentrations élevées) pour la croissance,
- X , la concentration des microorganismes, est relativement faible.

D'autres modèles sont des équivalents pour Monod :

$$- \mu(\xi) = \mu_{\max} \left[1 - e^{-K_T \xi} \right] \quad \text{Modèle Tessie (46)}$$

$$- \mu(\xi) = \mu_{\max} \left(1 + K_M \xi^{-n} \right)^{-1} \quad \text{Modèle Moser (47)}$$

Le modèle Tessier (Tessier 1942) contient deux constantes, μ_{\max} et K_T , et le modèle Moser contient trois constantes, μ_{\max} , K_M et n . On remarque que le modèle Moser est équivalent au modèle Monod lorsque $n = 1$.

Un autre modèle, celui de Contois (Contois 1959), permet de refléter certains comportements à hautes concentrations cellulaires, dont un ralentissement important de la croissance à ces dernières. Pour ce faire, il comprend une constante de saturation (en quelque sorte un nouveau seuil de limitation nutritionnelle) proportionnelle à la concentration cellulaire pour décrire la croissance ($K_M \rightarrow K_C X$), dont l'équation est donnée par l'expression (48), et dont la relation (pour diverses concentrations cellulaires) en fonction de la variable ξ est illustrée à la Figure 38.

$$\mu(\xi, X) = \frac{\mu_{\max} \xi}{K_C X + \xi} \quad \text{Modèle Contois (48)}$$

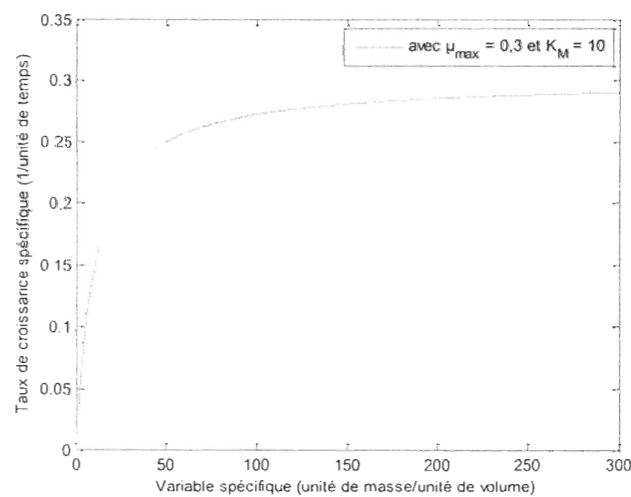


Figure 37 : Exemple de tracé pour un modèle de Monod

Une limitation des modèles précédents est qu'ils ne permettent pas de prendre en compte l'inhibition de croissance pouvant être causée par une haute concentration de la variable ξ . Dans certains cas, la croissance de microorganismes est en effet ainsi influencée par une concentration trop élevée d'une variable qui est même nécessaire à sa croissance (p.ex. : substrat, produit, etc.). Andrews (1968) est le premier à suggérer qu'une inhibition due à une variable ξ peut être traitée par le modèle de Haldane, qui a été établi par Haldane (1930) pour décrire des phénomènes d'inhibition dans des réactions enzymatiques :

$$\mu(\xi) = \frac{K_{H0}\xi}{K_M + \xi + \frac{\xi^2}{K_H}} \text{ avec } K_{H0} = \mu_{\max} \left(1 + \sqrt{\frac{K_M}{K_H}} \right) \quad (49)$$

avec K_H , le paramètre d'inhibition (Figure 39). Si l'effet d'inhibition est négligeable, le modèle Haldane est réduit au modèle Monod.

Les modèles précédents sont principalement utilisés pour décrire les influences de métabolites tels des substrats et des produits. D'autres modèles sont généralement utilisés pour les facteurs environnementaux tels le pH et la température. Pour supporter la croissance, ces variables doivent se situer dans des limites acceptables. Rozzi (1984) propose le modèle parabolique suivant pour l'influence du pH :

$$\mu(pH) = a \cdot (pH)^2 + b \cdot (pH) + c \quad (50)$$

avec a , b et c des constantes (Figure 40).

Un autre modèle, inspiré de l'équation d'Arrhenius par les auteurs Topiwala and Sinclair (1971), propose l'équation suivante pour l'influence de la température Γ :

$$\mu(\Gamma) = \begin{cases} a_1 e^{\left(\frac{-E_1}{R\Gamma}\right)} - a_2 e^{\left(\frac{-E_2}{R\Gamma}\right)} - b & si \quad \Gamma_1 \leq \Gamma \leq \Gamma_2 \\ 0 & si \quad \Gamma < \Gamma_1 \text{ ou } \Gamma > \Gamma_2 \end{cases} \quad (51)$$

avec Γ_1 la température limite minimale (K) et Γ_2 la température limite maximale (K) où la croissance peut toujours avoir lieu, E_1 et E_2 les énergies d'activations d'Arrhenius ($J \cdot mol^{-1}$),

R est la constante des gaz parfaits et a_1 , a_2 et b sont des constantes. L'équation indique que le taux de croissance spécifique varie à partir de $\Gamma = \Gamma_1$ jusqu'à ce que $\Gamma = \Gamma_2$ (Figure 41).

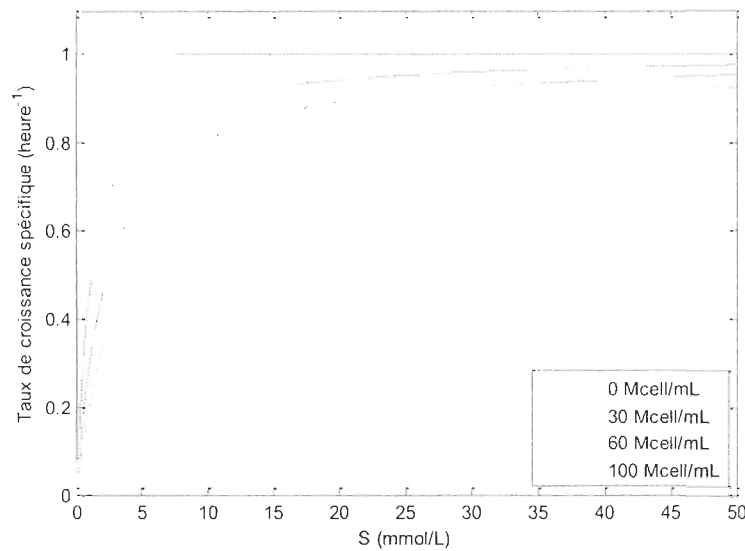


Figure 38 : Exemple de courbe du modèle Contois, avec $K_C = 0,04$

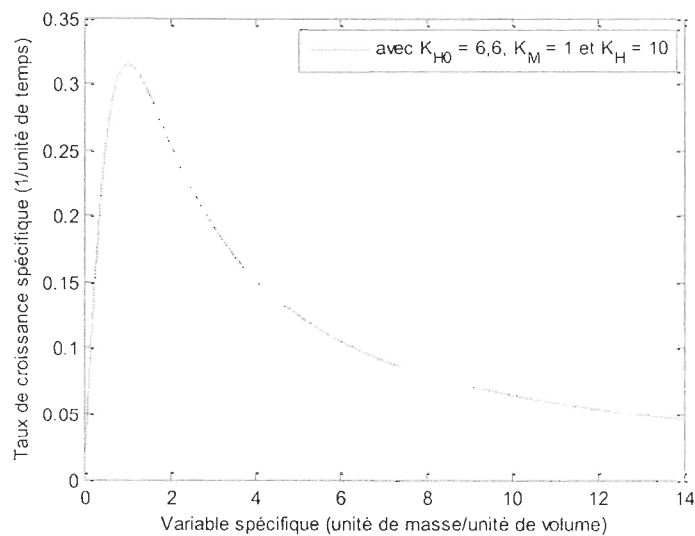


Figure 39: Exemple de courbe du modèle Haldane

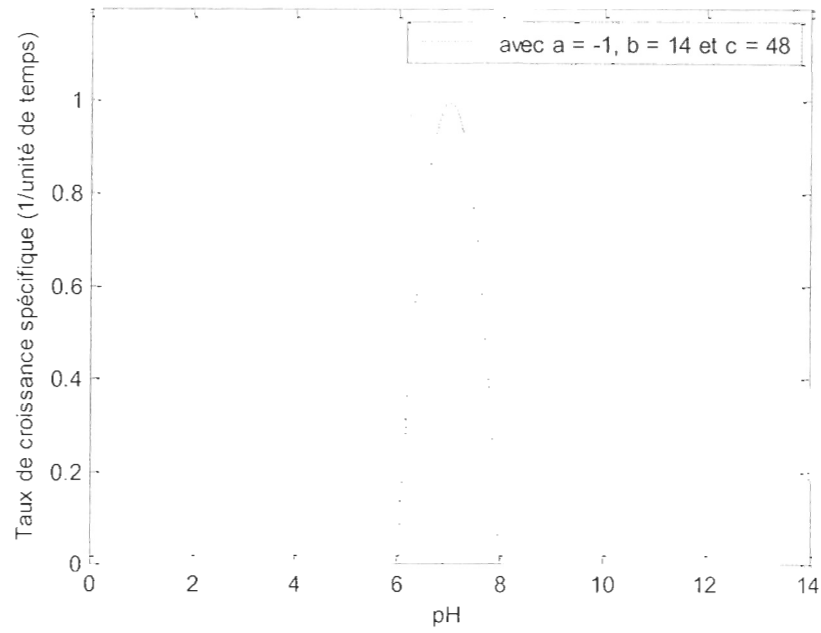


Figure 40: Exemple de modèle Rozzi, avec un pH optimal de 7

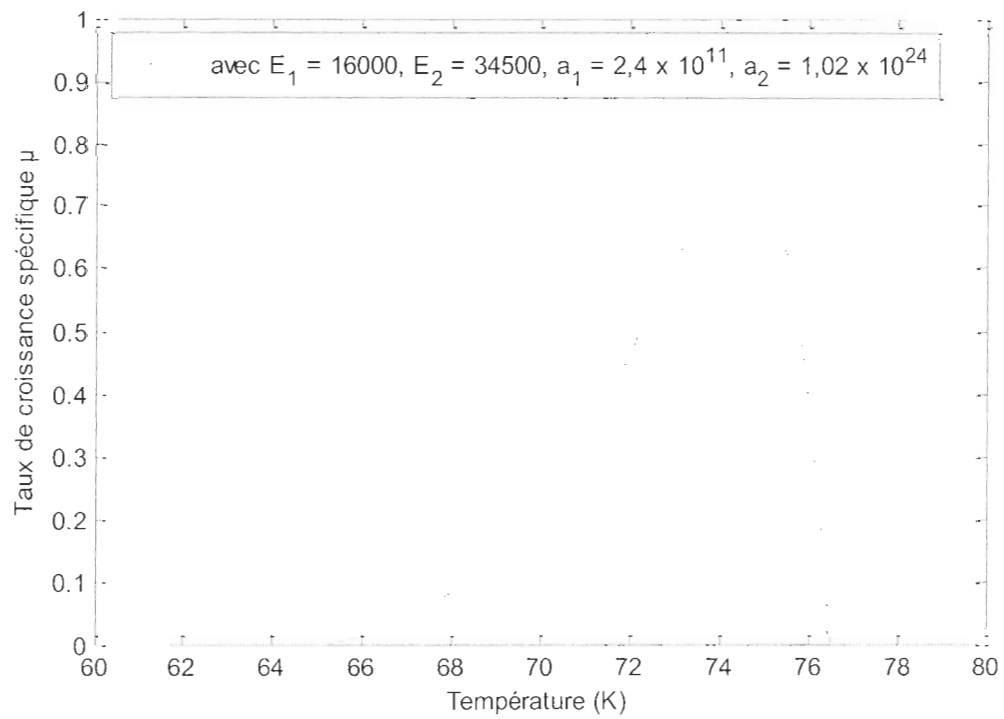


Figure 41 : Exemple modèle pour l'influence de la température, avec $T_1 = 65,3$ K et $T_2 = 76,3$ K

Les principaux taux de croissance spécifiques dans la littérature ont été présentés. Une liste exhaustive de modèles de taux de croissance spécifiques se trouve dans l'annexe 1 de Bastin et Dochain (1990). Avant d'aborder la section sur les équations dynamiques des microalgues autotrophes en photobioréacteur clos, le modèle général des variables d'états est présenté. Également présenté en détails dans Bastin et Dochain (1990), ce modèle général est un outil fort intéressant pour aider à la compréhension globale des dynamiques des bioprocédés.

Modèle général des variables d'états pour la description des bioprocédés dans des bioréacteurs

Cette structure de modèle est la contribution de Bastin et Dochain (1990). Dans cet ouvrage, on établit tout modèle dynamique d'un bioprocédé en suivant les principes suivants :

1. On identifie un modèle de réaction, comportant les N variables présentes \mathcal{G}_i ($i=1, \dots, N$) ayant une influence ou étant d'intérêt pour la dynamique du procédé et les M réactions φ_j ($j=1, \dots, M$) associées au métabolisme de l'espèce d'intérêt. On identifie six catégories de \mathcal{G}_i :
 - populations de microorganismes,
 - enzymes (p.ex. : xylose isomérase et aminoacylase),
 - substrats introduits dans le bioréacteur (de source extérieure),
 - composés gazeux ou sous forme dissoute,
 - produits et substrats issus de réactions du procédé,
 - variables d'environnement (ex. : pH, T, etc.).

2. Les dynamiques de chacune des variables \mathcal{G}_i sont établies selon la structure suivante :

$$\frac{d\mathcal{G}_i}{dt} = \sum_{j \sim i} (\pm) K_{ij} \cdot \varphi_j(\mathcal{G}_i, t) + D(\mathcal{G}_{i_{in}} - \mathcal{G}_i) - Q_i(\mathcal{G}_i) \quad (52)$$

avec K_{ij} des coefficients de conversion (la notation $j \sim i$ indique que la sommation est en rapport à la réaction j impliquant l'élément i), $\varphi_j(\mathcal{G}_i, t)$ sont les taux de réactions, \pm indique si \mathcal{G} est un réactant (-) ou s'il est un produit d'une réaction (+), $\mathcal{G}_{i_{in}}$ est la concentration de la variable dans le débit d'entrée, D est le taux de dilution et $Q(\mathcal{G})$ est le débit massique sortant de \mathcal{G} sous forme gazeuse (phénomène de dégazage). Le terme $\sum_{j \sim i} (\pm) K_{ij} \cdot \varphi_j(\mathcal{G}_i, t)$ décrit les cinétiques des réactions biologiques en jeu et leurs interactions avec les différentes variables dans le procédé. Les autres termes $D(\mathcal{G}_{i_{in}} - \mathcal{G}_i) - Q_i(\mathcal{G}_i)$ décrivent les dynamiques de transport (ajout, vidange, dégazage) des composantes à travers le bioréacteur.

3. Les K_{ij} sont strictement positifs (le signe, lié au sens de la réaction, est fixé séparément).
4. Si la récolte est en mode semi-continu : $F_{in} = F_{out} = 0$.
5. Si la composante ne peut pas s'évaporer sous forme gazeuse, $Q_i(\mathcal{G}_i) = 0$.

3.3 CULTURE DE MICROALGUES AUTOTROPHES EN PHOTOBIOREACTEUR

L'objectif de cette section consiste à faire le lien entre les informations présentées sur la modélisation généralement applicable aux bioprocédés en bioréacteurs et la production spécifique de microalgues autotrophes en photobioréacteur clos. En particulier, on y présente et justifie la structure de modèle complète qui sera utilisée pour le cas précis de

Nannochloropsis oculata (Figure 42), ainsi que les différents taux de croissance associés), abordés à la section 3.4.

3.3.1 Particularités des microalgues autotrophes

La plupart des microalgues sont autotrophes, c'est-à-dire qu'elles élaborent leur propre substance organique à partir de dioxyde de carbone, en utilisant la lumière comme source d'énergie. D'autres sont hétérotrophes : elles métabolisent du carbone (source d'énergie) en consommant des substances organiques, telles que des sucres et des acides organiques. D'autres sont mixotrophes : elles peuvent se reproduire autant grâce à la photosynthèse (consommation de dioxyde de carbone en présence d'énergie lumineuse) qu'en consommant divers composés organiques.

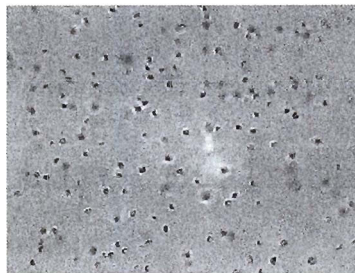


Figure 42 : *Nannochloropsis oculata*

Les développements des modèles mathématiques de cette section se restreignent à la croissance de microalgues autotrophes strictes, car l'espèce d'intérêt (*Nannochloropsis oculata*) n'est cultivée qu'en autotrophie dans nos laboratoires. Des publications scientifiques (Franco-Lara et al. 2006; Bernard 2010; Mairet et al. 2010; Mairet et al. 2011) se penchent sur des développements mathématiques sur la modélisation de microalgues autotrophe. Toutefois, ceux-ci ne prennent pas en compte (1) la mesure du pH à partir du débit entrant de CO_2 , mesures dont le système dans le cadre de ce projet de maîtrise dispose, et (2) l'impact de l'oxygène dissous sur la reproduction de la culture, d'où la nécessité de développer un

nouveau modèle. Aussi, certains modèles des taux de croissances spécifiques (section 3.2.3) ont été adaptés afin de coller aux données expérimentales.

3.3.2 Particularités des photobioréacteurs clos

Un photobioréacteur (Figure 6) est défini comme étant un bioréacteur à l'intérieur duquel peuvent se développer des microorganismes nécessitant la présence de lumière pour croître ou se maintenir. Cette dernière est alors transmise aux microorganismes soit à travers une surface transparente ou via un système d'illumination situé à l'intérieur du réacteur. Tout comme les autres bioréacteurs (systèmes fermés), son avantage principal est qu'il permet une bien meilleure maîtrise des conditions environnementales pour les microalgues que les systèmes ouverts (étangs ouverts ou systèmes « raceway ») aussi utilisés plus près de l'équateur pour des cultures de masse de microalgues. La concentration de nutriments, le processus d'homogénéisation du milieu, la température et le pH peuvent être notamment contrôlés, afin d'optimiser les probabilités que les microorganismes désirés demeurent dominants. Les risques sont également plus faibles que différents contaminants puissent pénétrer dans la culture, le protégeant ainsi de microorganismes compétiteurs. Des photobioréacteurs sont utilisés en pratique pour exploiter plus de 50 000 espèces différentes de microalgues (Richmond 2004). Il est alors important d'obtenir des modèles mathématiques prenant en compte les caractéristiques spécifiques des photobioréacteurs afin d'aider aux développements technologiques et techniques liés à l'opération de ces derniers.

La modélisation complète d'une culture en photobioréacteur exige que le couplage du métabolisme des microalgues avec le phénomène physique du transfert de lumière à l'intérieur de la culture soit connu, car la lumière joue un rôle crucial chez les espèces qui y sont cultivées. Dans la littérature, il est usuel de lier la croissance de la culture à l'intensité lumineuse moyenne entre la surface et le centre du photobioréacteur (Evers 1990; Cornet et al. 1992; Taya et al. 1995; Li et al. 2003; Richmond 2004; Loubière et al. 2009). La modélisation peut prendre en compte les propriétés spectrales et physiques de la source

lumineuse, la forme géométrique du photobioréacteur, l'opacité de la culture et la physiologie des cellules de la culture (Ogbonna et al. 1995).

Par ailleurs, au regard des pratiques actuelles et des avancées dans le domaine de la commande automatique, l'utilisation de modèles détaillés pour aider à l'élaboration de stratégies de contrôle permet d'obtenir des rendements de production améliorés. Un contrôle plus serré des conditions de croissance, en maintenant ces dernières à des niveaux optimaux pour la biomasse, est à l'origine de ces rendements plus élevés. De plus, l'automatisation permet de réduire les coûts en minimisant les besoins de main-d'œuvre, celle-ci étant libérée pour effectuer des tâches plus stratégiques au sein de l'usine que de s'affairer à ajuster périodiquement des variables de procédé avec un succès mitigé. Dans les sections qui suivent, la modélisation du système est présentée pour les deux modes préconisés pour l'opération des cultures de microalgues, soient le mode de récolte en semi-continu et le mode de récolte en continu. Ces modèles seront ensuite utilisés pour appuyer le développement d'algorithmes de contrôle et d'optimisation en temps réel adaptés au système physique (chapitre 5).

3.3.3 Schématisation réactionnelle du procédé

La schématisation réactionnelle représentant la culture de microalgues autotrophes qui nous intéresse comprend uniquement la réaction de croissance par photosynthèse, en présence de sels nutritifs :



avec X la concentration en biomasse, $\sum S$ les concentrations de sels nutritifs, I l'énergie lumineuse absorbée par les microalgues (unité Einstein·unité de surface⁻¹·unité de temps⁻¹), $[CO_2]$ la concentration de dioxyde de carbone et $[DO]$ la concentration d'oxygène dissous.

3.3.4 Équations de la dynamique de croissance en photobioréacteur

Les équations (38) à (44), régissant la dynamique de croissance des microorganismes cultivés en bioréacteurs, et le modèle général (équation (52)) de la section 3.2.3 sont utilisés ici pour décrire le procédé, soit la culture d'une espèce de microalgues strictement autotrophe en photobioréacteur, dont le but est de produire la biomasse en elle-même. La dynamique en phase de croissance est donc l'élément central du modèle, avec les spécificités suivantes :

- la concentration de biomasse X est représentée par (38) avec $\mathcal{G} = X$, $\varphi = \mu \cdot X$, $K = 1$, et $Q(\mathcal{G}) = 0$,
- la concentration des sels nutritifs S est représentée par (39) avec $\mathcal{G} = S$, $\varphi = \mu \cdot X$, $K = k_s$ et $Q(\mathcal{G}) = 0$,
- la concentration d'oxygène dissous $[DO]$ représentée par (43) avec $\mathcal{G} = [DO]$, $K = K_{DO0}$ et $-Q(\mathcal{G}) = K_{DO1} Q_{bulletot}([DO]_C - [DO])$,
- la concentration de dioxyde de carbone $[CO_2]$ représentée par (44) avec $\mathcal{G} = [CO_2]$, $K = K_{CO_20}$ et $-Q(\mathcal{G}) = K_{CO_21} Q_{bulletot}([CO_2]_C - [CO_2])$.

Les équations générales étant formulées, le cas particulier des deux modes spécifiques de production (semi-continu et continu) est présenté dans les sous-sections suivantes.

Mode semi-continu (ou « batch »)

En mode semi-continu (en mode « batch »), les débits entrant F_{in} et sortant F_{out} d'un photobioréacteur sont nuls :

$$\frac{F_{in}}{V} = \frac{F_{out}}{V} = D = 0$$

En mode d'opération semi-continu, le bioréacteur est initialement rempli avec du milieu de culture frais et inoculé avec une petite quantité de microalgues. Ainsi, en utilisant les principes présentés à la section 3.2.3, les équations régissant la dynamique de la croissance cellulaire et des sels nutritifs sont représentées directement par :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (54)$$

et

$$\frac{dS}{dt} = -k_s \mu X \quad (55)$$

respectivement. Les équations (43) et (44) doivent être adaptées au cas présent, pour devenir :

$$\frac{d[DO]}{dt} = K_{DO1} Q_{bulletoi} ([DO]_C - [DO]) + K_{DO0} \cdot \mu \cdot X \quad (56)$$

et

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = K_{CO_21} Q_{bulletoi} ([CO_2]_C - [CO_2]) - K_{CO_20} \cdot \mu \cdot X \quad (57)$$

Mode d'opération continu

Dans ce mode, tel que présenté plus tôt, le photobioréacteur est continuellement alimenté avec du milieu de culture frais et la biomasse est aussi récoltée en continu. Le débit entrant F_{in} et le débit sortant F_{out} sont égaux, et le volume d'opération du bioréacteur est aussi constant. On définit le taux de dilution D comme suit :

$$\frac{F_{in}}{V} = \frac{F_{out}}{V} = \frac{F}{V} = D$$

Ainsi, à partir des éléments présentés pour la récolte continue à la section 3.2.3, les équations régissant les dynamiques sont directement :

$$\frac{d(VX)}{dt} = \mu VX - FX \Rightarrow \frac{dX}{dt} = (\mu - D) \cdot X \quad (58)$$

$$\frac{d(S)}{dt} = -k_s \mu VX + FS_{in} - FX \Rightarrow \frac{dS}{dt} = -k_s \mu X + D(S_{in} - S) \quad (59)$$

$$\frac{d[DO]}{dt} = K_{DO0} \cdot \mu \cdot X + K_{DO1} Q_{bulletot} ([DO]_C - [DO]) - D[DO] \quad (60)$$

et

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = K_{CO_21} Q_{bulletot} ([CO_2]_C - [CO_2]) - K_{CO_20} \cdot \mu \cdot X - D[CO_2] \quad (61)$$

À partir des taux de croissance présentés à la section 3.2.3, ceux associés aux différentes variables (X , S , DO , pH et I) qui régissent les dynamiques de croissance d'une culture de *Nannochloropsis oculata* seront abordés dans la section 3.4.1. En effet, la prochaine section présente les étapes de finalisation du modèle spécifique à la production de biomasse de cette espèce de microalgues.

3.4 MODÈLE DYNAMIQUE POUR NANNOCHLOROPSIS OCULATA

Les notions générales permettant de définir un modèle de la dynamique de croissance d'un microorganisme en bioréacteur, ainsi que les particularités des espèces autotrophes en photobioréacteur, tant en mode de récolte continue que semi-continue, ont été présentées précédemment. La présente section se basera sur l'ensemble de ces notions, afin d'établir un modèle spécifique à l'espèce *Nannochloropsis oculata* cultivée dans les photobioréacteurs présentés au chapitre 3. Ce modèle sera utilisé pour programmer un simulateur sous Simulink© (section 3.5).

Les facteurs considérés dans le développement du modèle sont les suivants :

- biomasse X ,
- sels nutritifs S (bien que la formulation du milieu soit plus complexe, on le considère ici en bloc, comme un seul nutriment pour le représenter plus simplement),
- pH,
- oxygène dissout $[DO]$,
- dioxyde de carbone dissout $[CO_2]$,
- intensité lumineuse I ,
- volume d'opération V .

Les variables manipulées sont :

- le débit entrant de dioxyde de carbone gazeux,
- le débit entrant d'air,
- le débit entrant de nutriments (en récolte continue seulement),
- le débit sortant de récolte de la culture (en récolte continue seulement).

Pour ce système, il est omis de prendre en considération la température, car la température de la pièce est régulée à 22°C, 24 heures sur 24, par le système de climatisation de la pièce et convient parfaitement à la croissance de *Nannochloropsis oculata*. La méthodologie de préparation du milieu de culture fait également en sorte que les nutriments sont amenés à la culture à cette température exactement (chapitre 3). Le débit entrant de dioxyde de carbone gazeux permet de réguler le pH et le débit entrant d'air permet d'homogénéiser la culture et dégazage. Aucun produit P n'est considéré.

3.4.1 Équations dynamiques et taux de croissance spécifiques

Les équations dynamiques des microalgues autotrophes en photobioréacteurs (section 3.3.4) et les taux de croissances des microorganismes (section 3.2.3) sont utilisées pour définir le modèle dynamique. La dynamique de la concentration en biomasse X (Millions de cellules·mL⁻¹) est représentée par (38) :

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - D)X$$

avec μ le taux de croissance spécifique de la biomasse (heure⁻¹) et D le taux de dilution, lié à la récolte (heure⁻¹).

Le taux de croissance μ est fonction de tous les facteurs d'intérêt :

$$\mu = \mu(X, S) \cdot \mu(pH) \cdot \mu([DO]) \cdot \mu(X, I) \quad (62)$$

La concentration en sels nutritifs S (millimoles de sels nutritifs·L⁻¹) est représentée par (39) :

$$\frac{dS}{dt} = -K_{s0} \cdot \mu \cdot X + D(S_{in} - S)$$

avec K_{s0} une constante de proportionnalité, D le taux de dilution (heure⁻¹) et S_{in} la concentration en nutriments dans le débit entrant (millimoles de nutriments·L⁻¹). Des expériences antérieures sur le système ont suggéré que de plus hautes concentrations en sels nutritifs ne sont pas dommageables pour la culture et ne ralentissent pas la croissance. Le modèle utilisé ne comprendra donc pas de terme lié à de l'inhibition de croissance en fonction de cette variable.

D'autres résultats précédents laissent aussi suggérer que la phase *plateau* (Figure 34) obtenue avec *Nannochloropsis oculata* n'est pas due à une limitation nutritionnelle, mais à un autre facteur probablement lié à la haute concentration cellulaire alors obtenue, qui n'a pas encore été déterminé. Le taux de croissance spécifique lié à la concentration des sels

nutritifs S (Figure 38) est donc considéré être modélisable par une forme de Contois (section 3.2.3) :

$$\mu(X, S) = \frac{\mu_{\max} S}{K_{SX} X + S} \quad (63)$$

La concentration d'oxygène dissous $[DO]$ (% sat. d'air) est représentée par (43) :

$$\frac{d[DO]}{dt} = K_{DO1} Q_{bulletot} ([DO]_C - [DO]) + K_{DO0} \cdot \mu \cdot X - D[DO]$$

avec K_{DO1} constante associée aux dynamiques des échanges de masses gazeuses, K_{DO0} une constante associée à la production d'oxygène par la croissance d'algues, $Q_{bulletot}$ débit gazeux total entrant dans les réacteurs ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$), $[DO]_C$ est la concentration d'équilibre d'oxygène dans le réacteur en l'absence de microalgues, déduites à partir de la loi de Henry à l'équilibre avec l'air normal (21%).

Lors de la photosynthèse, les algues relâchent de l'oxygène. De trop hautes concentrations d'oxygène peuvent nuire à la croissance des microalgues, tel que mentionné plus tôt. Basé sur le comportement de l'espèce dans des expériences antérieures, on croit que le taux de croissance spécifique en lien avec l'oxygène dissout peut être représenté par une forme telle qu'illustrée à la Figure 43. Afin de représenter une telle courbe, la forme de modèle présentée à l'équation (64) est utilisée. Notons ici qu'aucune référence à la littérature n'a pu être trouvée pour cet élément, et que le seul but ici était d'avoir une représentation suffisante du système pour appuyer le développement des algorithmes de contrôle. Cette portion du modèle n'a donc aucune prétention d'expliquer ou de refléter la physique du système, en ce qui a trait à ce qui se passe dans la cellule avec l'oxygène dissout.

$$\mu([DO]) = \frac{1}{1 + K_{DO2} [DO]^8} \quad (64)$$

Le modèle dynamique du pH est basé sur le système des carbonates (Copin-Montegut 2002) afin d'arriver à une relation du type :

$$pH = f([CO_2]) \quad (65)$$

Les réactions chimiques sont considérées être toujours à l'équilibre, car leur dynamique est beaucoup plus rapide que celle du bioprocédé. Ces relations sont :

$$\begin{aligned} K_1 &= [H^+][HCO_3^-]/[CO_2] \\ K_2 &= [H^+][CO_3^{2-}]/[HCO_3^-] \\ CT &= [CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] \end{aligned} \quad (66)$$

avec K_1 et K_2 des constantes cinétiques ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) et CT la concentration totale de carbone ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

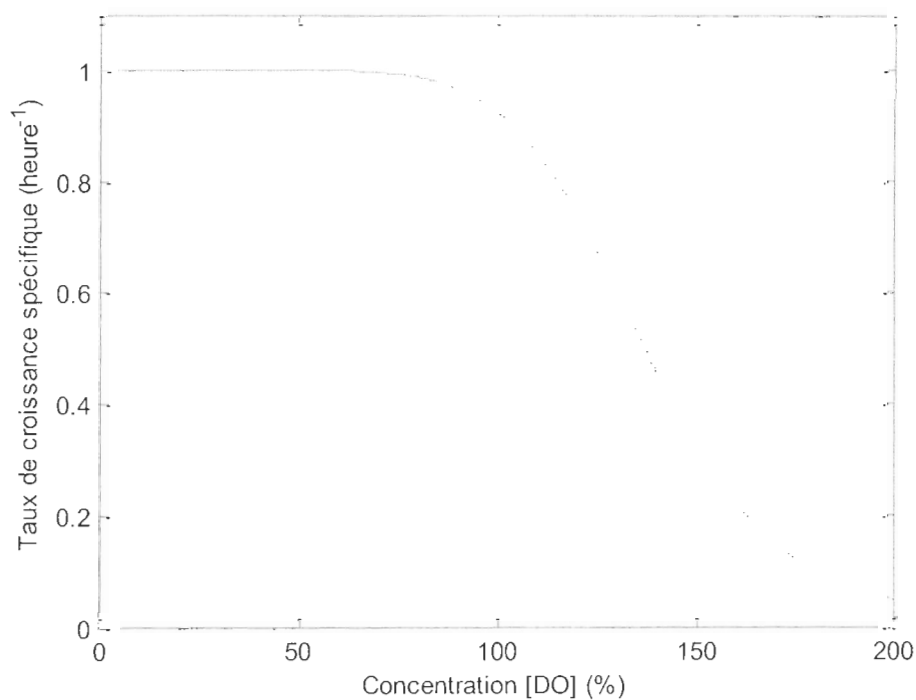


Figure 43 : Modèle du taux de croissance spécifique en fonction de la concentration en oxygène dissout

À l'aide de ces relations, la concentration de $[H^+]$ peut être déterminée, et conséquemment, la valeur du pH aussi, de par sa définition :

$$pH = -\log([H^+])$$

La concentration de dioxyde de carbone $[CO_2]$ ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) est représentée par (44) :

$$\frac{d[CO_2]}{dt} = K_{CO_2,1} Q_{bulletoir} ([CO_2]_C - [CO_2]) - K_{CO_2,0} \cdot \mu \cdot X - D[CO_2]$$

avec $K_{CO_2,1}$ constante associée aux dynamiques des échanges de masses gazeuses, $K_{CO_2,0}$ constante associée à la consommation de dioxyde de carbone associé à la croissance et $[CO_2]_C$ est la concentration d'équilibre de dioxyde de carbone dans le réacteur en l'absence de microalgues déduite à partir de la loi de Henry ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Des expériences antérieures sur le système suggèrent que le taux de croissance en fonction du pH peut être mieux représenté sous la forme Haldane plutôt qu'une parabolique (Shuler et Kargi 2002), car $\mu(pH)$ n'atteint jamais 0 même pour des valeurs assez extrêmes de pH (Figure 44) :

$$\mu(pH) = \frac{pH}{K_{pH0} + K_{pH1} \cdot (pH) + K_{pH2} \cdot (pH)^2} \quad (67)$$

Afin de faciliter l'obtention de paramètres pour ce modèle, des contraintes sont fixées de sorte que la valeur maximale de la fonction soit 1 et que le pH optimal soit directement choisi comme étant pH_{\max} . Outre ces contraintes, seul le paramètre K_{pH2} demeure à fixer pour jouer sur la forme du taux de croissance en fonction du pH. Les deux paramètres K_{pH0} et K_{pH1} sont alors définis de la façon suivante, pour respecter les contraintes :

$$\begin{aligned} K_{pH0} &= K_{pH2} \cdot (pH_{\max})^2 \\ K_{pH1} &= 1 - 2K_{pH2} \cdot pH_{\max} \end{aligned} \quad (68)$$

Le dernier paramètre est l'intensité lumineuse I ($\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Afin d'avoir une bonne représentation du comportement observé expérimentalement (photoinhibition et ombrage cellulaire), le modèle pour le taux de croissance en fonction de l'intensité lumineuse choisi a été inspiré des modèles Haldane et Contois. Le modèle Haldane de base seul ne permet pas de tenir compte des effets dus à de fortes concentrations cellulaires (ex. : ombrage cellulaire, ou autre phénomène inhibiteur de croissance dû à la biomasse elle-même). L'idée a donc été d'appliquer le même raisonnement que ce qui est fait entre le modèle de Monod et le modèle de Contois : la constante seule au dénominateur (K_I) est remplacée par un produit entre une nouvelle constante et la concentration cellulaire ($K_{IX} \cdot X$). Toutefois, effectuer ce remplacement seul ne donne pas un résultat acceptable, car l'intensité lumineuse théoriquement optimale (prédite par le modèle) devient près de zéro pour de faibles concentrations cellulaires. Cela n'est pas le cas en pratique. Même en ajoutant une nouvelle constante seule au dénominateur (K_{I0}), le résultat n'est pas satisfaisant pour représenter le système physique : les effets à hautes concentrations cellulaires ne sont pas suffisamment prononcés. Pour ces raisons, le terme lié à la biomasse X (inspiré de Contois) a été finalement choisi sous forme quadratique (X^2). Suite à ces ajustements, le nouveau modèle permet de bien représenter le comportement de la culture en présence d'ombrage cellulaire, tout en prenant en compte le phénomène de photoinhibition (illustré à la Figure 45) :

$$\mu(X, I_0) = \frac{I_0}{(K_{I0} + K_{IX} \cdot X^2) + K_{I1}I_0 + K_{I2}I_0^2} \quad (69)$$

Les constantes K_{I0} et K_{I1} sont déterminées en suivant la même procédure utilisée pour K_{pH1} et K_{pH2} . Parmi les trois courbes de la Figure 44, celle dont $K_{pH2} = 20$ représente mieux le comportement du système physique.

Les équations dynamiques liées à la culture de *Nannochloropsis oculata* ont été présentées (voir annexe XIV pour les valeurs numériques des coefficients). La prochaine section présente le simulateur bâti à partir de ces dernières.

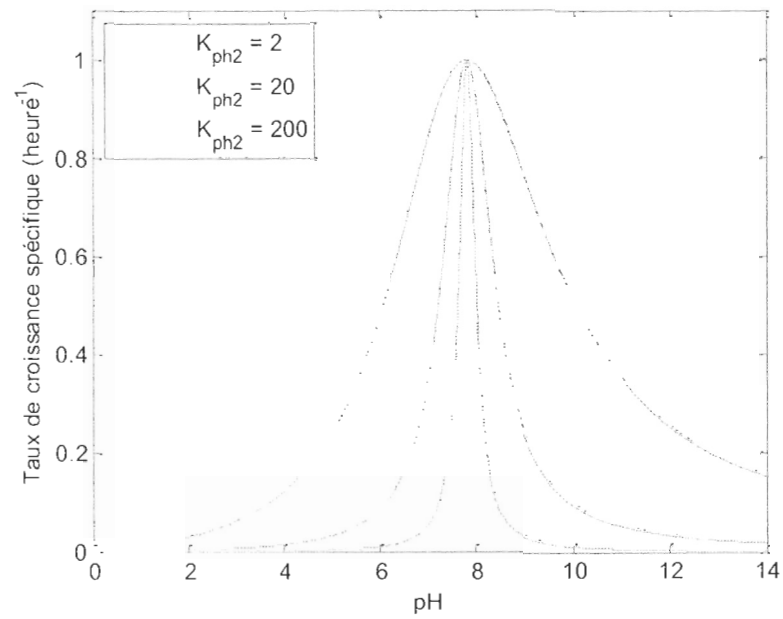


Figure 44 : Exemples de modèle de taux de croissance spécifique en fonction du pH

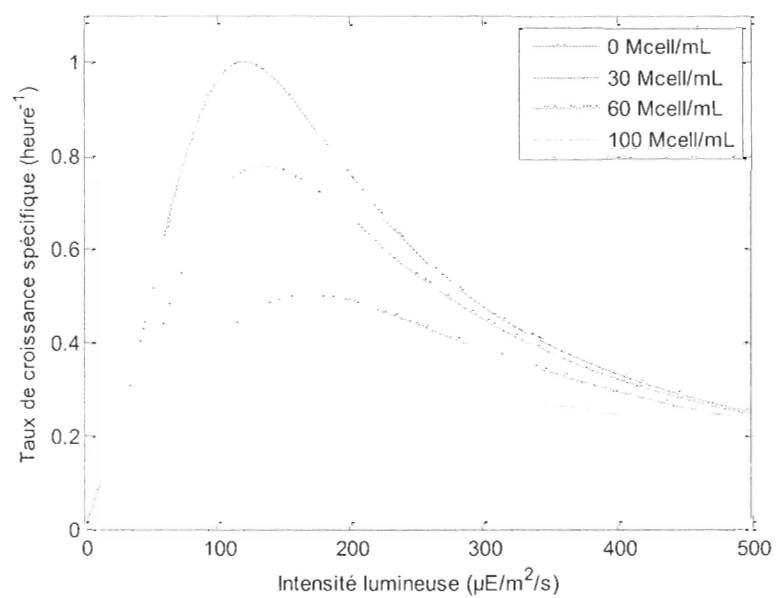


Figure 45 : Modèle du taux de croissance spécifique en fonction de l'intensité lumineuse, pour différentes concentrations cellulaires

3.5 MISE EN ŒUVRE DU SIMULATEUR ET VALIDATION SOMMAIRE

Le schéma réactionnel précédent, couplé aux équations physiques régissant les taux de croissance, de consommation et de production (l'ensemble des phénomènes en jeu dans la culture) ont été utilisés pour construire un simulateur, qui représente assez bien le comportement de l'espèce *Nannochloropsis oculata*. Ce simulateur peut être utilisé tant en mode de récolte semi-continue que continue. Des données expérimentales ont été utilisées pour obtenir les paramètres du modèle (ex. : Figure 47 et Figure 48), dont les principes généraux ont été présentés plus tôt dans ce chapitre (section 3.2.3 et section 3.3.4). Le simulateur a été construit sous Simulink© (MATLAB©), et sa fenêtre principale est illustrée à la Figure 46, où des boucles de contrôle sont actives sur le pH, le volume (lié au niveau) et la concentration en biomasse (bien qu'apparentes seulement en partie, les boucles sont effectivement actives et les signaux des variables de sortie sont envoyés à l'intérieur des blocs « Contrôleur » via des « Goto » et « From »). Notons que le simulateur peut néanmoins être utilisé sans ces boucles de contrôle (mode « manuel »).

Bien que les données de la Figure 49 semblent un peu moins fidèles au vrai système que celles de la Figure 48, le résultat dans son ensemble est quand même satisfaisant. En effet, il n'était pas visé obtenir un modèle à 100% identique au système réel, mais bien assez proche de son comportement (ne serait-ce qu'au moins la forme de la réponse) pour pouvoir valider l'applicabilité de stratégies de contrôle diverses, et obtenir des paramètres approximatifs pour ces stratégies. De plus, le simulateur permet d'éviter un certain nombre d'essais coûteux et de sauver beaucoup de temps (durée de 10 minutes pour simuler un essai de plusieurs mois).

La Figure 49 présente à cet effet une validation d'ensemble du comportement du simulateur sur quatre séries de données expérimentales (courbes de croissance). On voit que globalement, le comportement du simulateur représente bien le système, mais surtout aux concentrations cellulaires en phases initiales et exponentielles de croissance. En phase plateau, le comportement est un peu moins fidèle à la réalité, mais la région d'utilisation du simulateur se limitera essentiellement à la phase exponentielle, où le comportement est bien suffisamment fidèle à la réalité.

3.6 CONCLUSION

Dans ce chapitre, les lois physiques gouvernant les équilibres et les dynamiques de croissance, de consommation et de production de certaines molécules ont été utilisées pour décrire le comportement de l'espèce de microalgues *Nannochloropsis oculata* (en mode de récolte semi-continu et continu) en photobioréacteur. Ensuite, ces notions ont été utilisées pour construire un simulateur sous Simulink© (MATLAB©). L'objectif du simulateur était d'avoir un comportement suffisamment similaire au procédé réel pour pouvoir tester et éprouver l'efficacité et les performances de nouveaux algorithmes de contrôle et d'optimisation qu'il est visé y appliquer en pratique.

Le chapitre, divisé en quatre parties, a débuté par une brève exposition des principes de modélisation applicables de façon générale aux bioprocédés. Il a été suivi d'une section traitant du développement de modèles généraux applicables à des cultures de microalgues autotrophes en photobioréacteur. Les étapes du développement de cette dernière ont mené au résultat spécifique : le modèle développé pour le cas précis de *Nannochloropsis oculata* reflétant le taux de croissance spécifique en fonction de paramètres physiques. Les facteurs considérés dans le développement du modèle furent les suivants :

- la biomasse X ,
- les sels nutritifs S (bien que la formulation du milieu soit plus complexe, on l'aura considéré ici en bloc, comme un seul nutriment, pour le représenter plus simplement),
- le pH,
- l'oxygène dissout $[DO]$
- le dioxyde de carbone dissout $[CO_2]$,
- l'intensité lumineuse I ,
- Le volume d'opération V .

Les variables manipulées sont :

- le débit entrant de dioxyde de carbone gazeux,
- le débit entrant d'air,
- le débit entrant de milieu frais (en récolte continue seulement),
- le débit sortant de récolte de la culture (en récolte continue seulement).

Dans la quatrième et dernière section de ce chapitre, ce modèle a été appliqué au développement et à la validation (en bonne partie à l'aide de données expérimentales) du modèle sous la forme d'un simulateur sous Simulink®. Globalement, le comportement de ce dernier représente bien le système, surtout aux concentrations cellulaires en phases initiale et exponentielle de croissance. En phase plateau, le comportement est un peu moins fidèle à la réalité, mais la région d'utilisation du simulateur se limitera essentiellement à la phase exponentielle, où le comportement est bien suffisamment fidèle à la réalité.

Le prochain chapitre présentera les principaux résultats obtenus sur l'optimisation du système à l'aide de ce simulateur et leur transposition sur les systèmes expérimentaux. Les objectifs seront de réussir à appliquer la commande extrémale par la méthode des perturbations pour (1) maximiser le taux de croissance de l'espèce de microalgues *Nannochloropsis oculata* en modulant le pH de la culture en mode semi-continu et (2) optimiser la production de biomasse en mode de récolte continue du même système en modulant le taux de dilution D (heure^{-1}) indirectement via une boucle de contrôle sur la concentration cellulaire X ($\text{Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$), le produit entre ces deux quantités donnant directement la productivité du système.

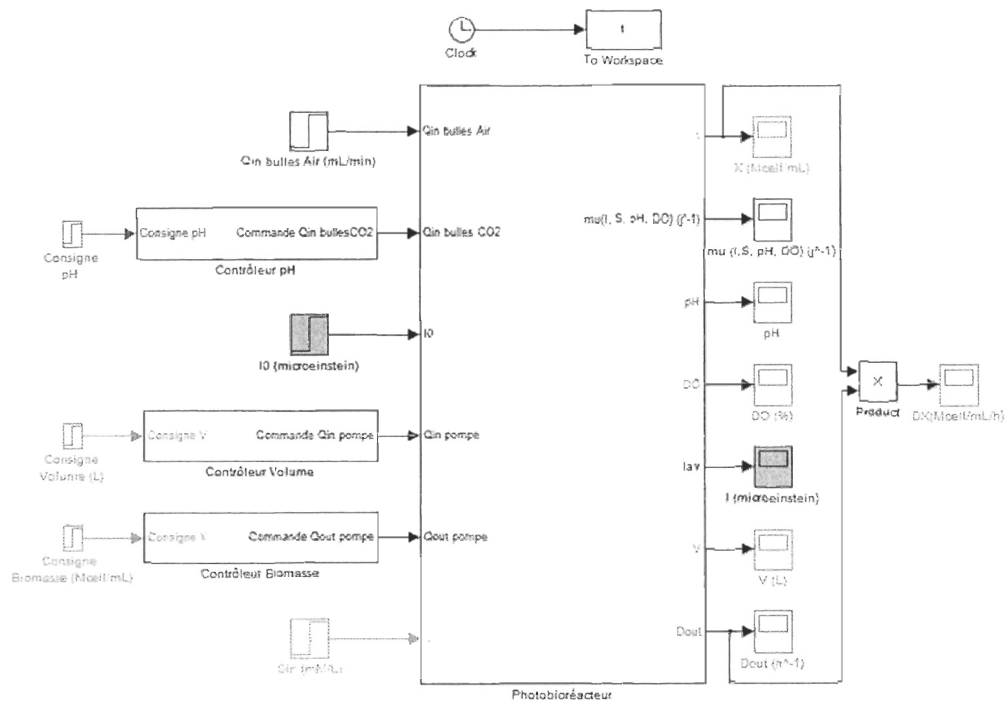


Figure 46 : Fenêtre principale du simulateur de culture de *Nannochloropsis Oculata* (avec boucles de contrôle actives sur le pH, le volume et la concentration en biomasse)

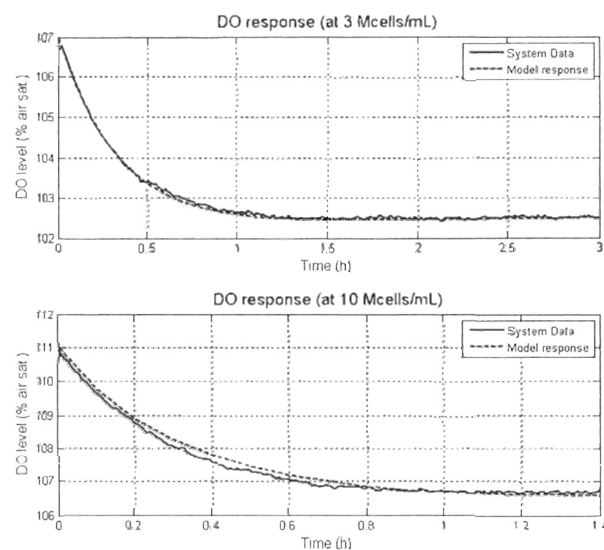


Figure 47: Comparaison entre le comportement du modèle non-linéaire pour l'oxygène dissout et la culture en réponse à un échelon sur le débit de bullage d'air (deux concentrations cellulaires)

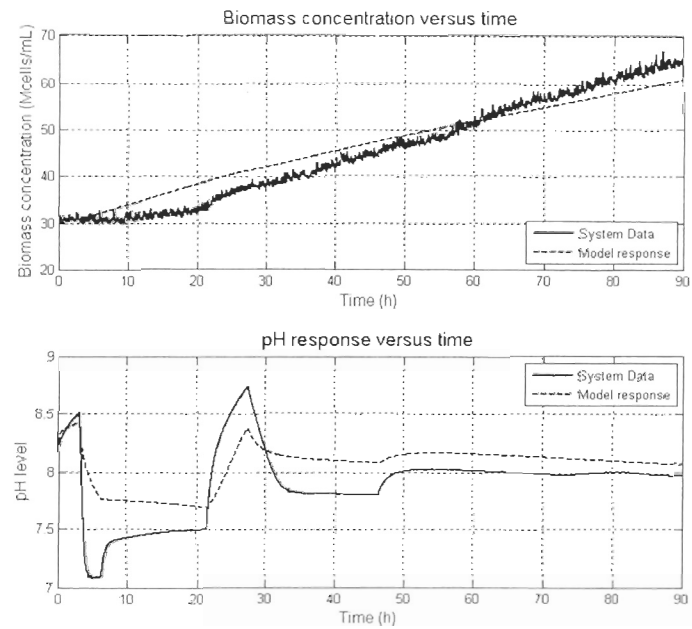


Figure 48: Comparaisons entre les données expérimentales sur le pH et la biomasse et le modèle ajusté

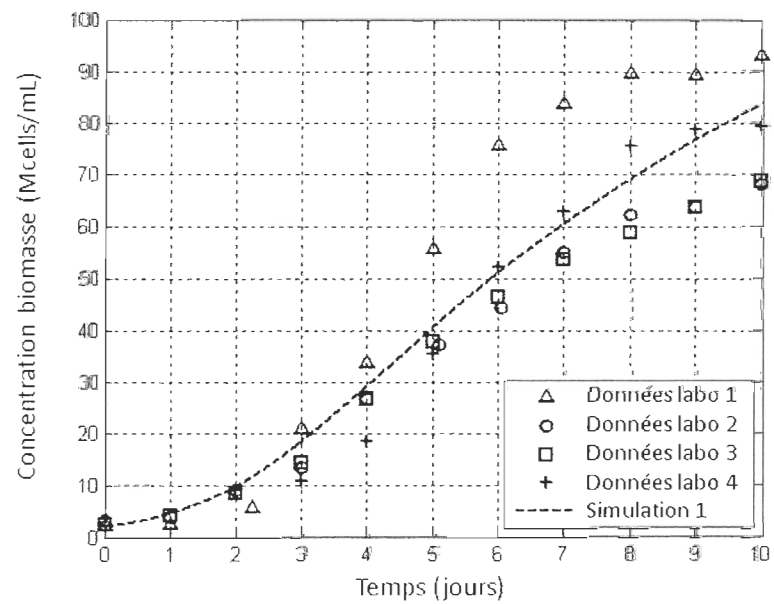


Figure 49 : Courbes de croissance simulée VS obtenues du système réel

CHAPITRE 4

RÉSULTATS DE L'APPLICATION DE LA COMMANDE EXTRÊMALE PAR LA MÉTHODE DES PERTURBATIONS

Ce chapitre présente les principaux résultats obtenus d'une part en simulation et d'autre part avec les systèmes expérimentaux pour ce qui est de l'application de la commande extrême par la méthode des perturbations pour (1) de maximiser le taux de croissance μ (jour^{-1}) de l'espèce de microalgues *Nannochloropsis oculata* en modulant le pH de la culture et (2) d'améliorer la production du même procédé, mais en récolte continue, en modulant la concentration cellulaire X ($\text{Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$), qui est directement relié à la production du système ($D \cdot X$). Ce dernier est divisé en quatre sections :

- simulation en mode semi-continu (ou « batch ») de l'optimisation du taux de croissance des microalgues en fonction du pH (section 4.1),
- Expérimentation de l'optimisation du taux de croissance des microalgues en fonction du pH (section 4.2),
- simulation en mode d'opération continu de l'optimisation de la productivité du système en fonction du taux de dilution (débit d'alimentation) (section 4.3),
- expérimentation en pratique sur les photobioréacteurs en mode continu de l'optimisation du taux de croissance des microalgues en fonction du taux de dilution (débit d'alimentation) (section 4.4).

4.1 SIMULATION DE L'OPTIMISATION DU TAUX DE CROISSANCE DES MICROALGUES EN FONCTION DU pH

Cette section débute avec de brèves explications générales sur l'influence du pH dans une culture afin d'en présenter l'intérêt dans l'optimisation du système. Ensuite, la caractérisation du procédé est expliquée dans le but de montrer l'idée derrière les réglages de la boucle de commande extrémale. Pour finir, les résultats de l'implémentation de cette dernière sont présentés.

4.1.1 Effets du pH

Le pH d'une culture est une variable importante, car il détermine la solubilité des éléments essentiels au bon fonctionnement du métabolisme. En effet, les changements de pH altèrent l'ionisation des molécules de nutriments, en réduisant ainsi la disponibilité pour la culture (Prescott et al. 2003). Des variations trop importantes de pH peuvent même détruire la membrane plasmique ou inhiber l'activité des enzymes et des protéines membranaires de transport (Prescott et al. 2003). À des valeurs plus « intermédiaires » de pH, la croissance d'un microorganisme est quand même affectée par sa valeur : chaque espèce possède sa propre « zone de confort » face au pH, et il existe pour chacune une valeur précise de cette variable qui maximise son taux croissance. Par exemple, le pH optimal de *Cyanidium* est autour de 2 tandis que le celui de *Spirulina* est plutôt autour de 10 (Becker 2008).

D'autre part, le pH d'une culture est influencé par plusieurs facteurs: composition et la capacité tampon du milieu, la concentration de CO_2 dissout, la température (influe sur la solubilité du CO_2) et l'activité métabolique de la cellule. Sans ajout continu d'une quantité appropriée de CO_2 , le pH d'une culture en croissance varierait, particulièrement en raison de l'excrétion d'ions OH^- . La quantité de CO_2 à ajouter est déterminée en pratique par l'application d'une boucle de contrôle qui vise à maintenir constante la valeur du pH. Cette valeur doit être mesurée par l'instrumentation appropriée, de façon fiable sur des périodes prolongées (car une culture en production peut être maintenue sur plusieurs mois). L'ajout de

CO_2 se fait en jouant sur l'ouverture d'une vanne proportionnelle faisant partie d'un module MFC (« Mass Flow Controller ») qui reçoit une consigne du débit de gaz à envoyer au système. Cette consigne est générée par un automate programmable, qui calcule à chaque instant la quantité de gaz à envoyer pour maintenir constante la valeur du pH. Pour ce faire, la dynamique physique entre l'ajout de CO_2 et le pH doit être caractérisée, ce qui est l'objet de la prochaine section.

4.1.2 Caractérisation du système et configuration de la stratégie d'optimisation

Tel que mentionné précédemment, le système requiert l'implantation d'une boucle de contrôle pour réguler le pH. La variable manipulée (commande) de cette boucle est la consigne du débit de CO_2 gazeux à envoyer au système, et la variable contrôlée est la mesure du pH (section 2.6).

La stratégie d'implantation de la commande extrémale est illustrée à la Figure 50, où chaque fonction est présentée sous forme de schéma-blocs simplifié. La variable d'entrée (dont on cherche la valeur optimale à appliquer) est le pH et le critère à maximiser est le taux de croissance μ . La boucle interne sur le pH est nécessaire pour parvenir à maintenir constante l'amplitude des oscillations, peu importe la concentration en biomasse, pour maintenir constante l'excitation sur le critère à maximiser. Autrement, si l'oscillation était appliquée sur la consigne du débit de CO_2 directement, l'amplitude des oscillations mesurées sur le taux de croissance serait atténuée à mesure que la concentration en biomasse augmenterait, ce qui viendrait rapidement limiter l'information pouvant être tirée de la mesure.

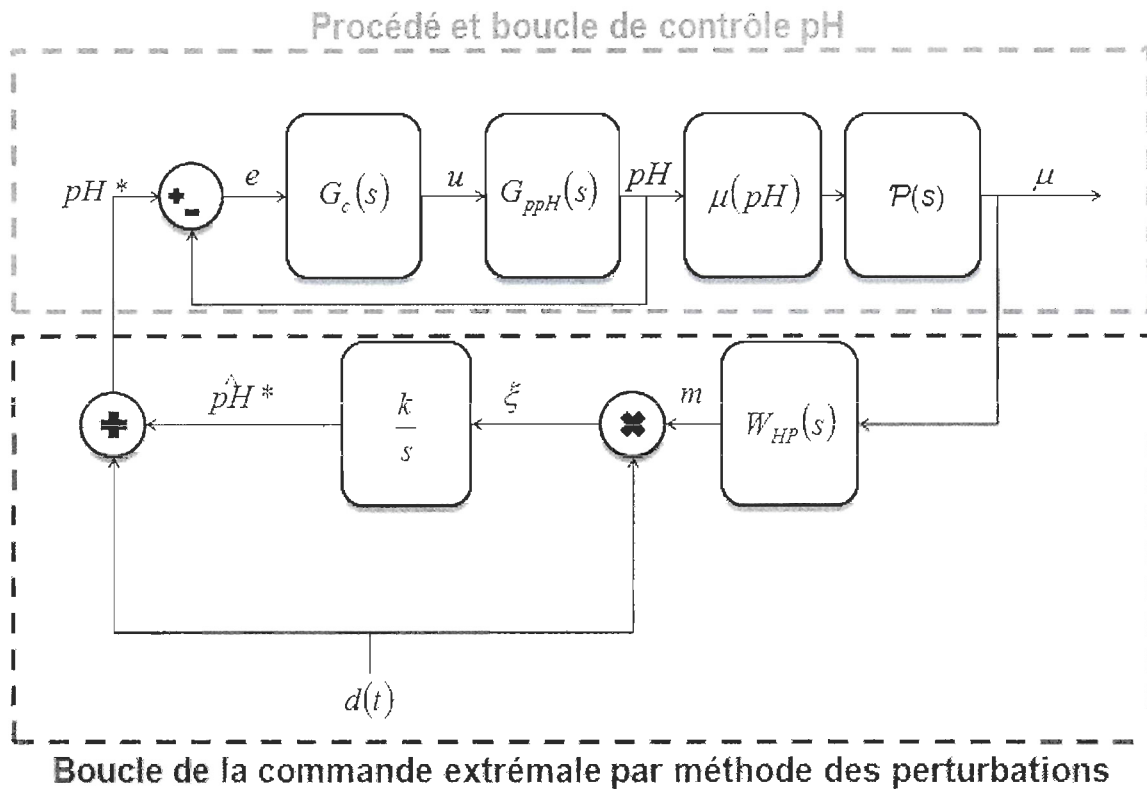


Figure 50 : Commande extrême appliquée au système (schéma-blocs)

Le signal e (Figure 50) est l'erreur entre la consigne pH^* et la mesure du pH réel, $P(s)$ apparaît dans le cas pratique (système réel) où la relation entre le pH et le taux de production μ mesuré n'est pas nécessairement instantanée ($P(s)=1$ dans le simulateur). En simulation, l'identification du système a été réalisée en réalisant des échelons sur le débit de CO_2 et en mesurant le pH de la culture (le gain est en unité de $pH \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$, et la base de temps de la fonction de transfert est en minutes) :

$$G_{ppH} = \frac{0,002}{1 + 27,5s}$$

Le réglage de $G_c(s)$ (PI) s'est fait en se basant sur l'annulation de pôle avec une spécification de constante de temps rapide de 0,1 h en boucle fermée :

$$G_c(s) = \frac{-433(1 + 27,5s)}{27,5}$$

Toutefois, le système agit souvent en boucle ouverte (lorsque le pH doit être augmenté, la variable manipulée entre en saturation à 0 mL·min⁻¹). Des réponses à l'échelon en boucle fermée (de 7,8 à 7,6 et de 7,6 à 7,4 au temps $t = 5$ secondes (Figure 51 et Figure 52)) ont permis de déterminer une fonction de transfert valide en approximation moyenne entre les deux réponses observées (sur une base de temps en heures) :

$$H(s) = \frac{G_c(s) \cdot G_{ppH}}{1 + G_c(s) \cdot G_{ppH}} \approx \frac{1}{1 + s} \quad (70)$$

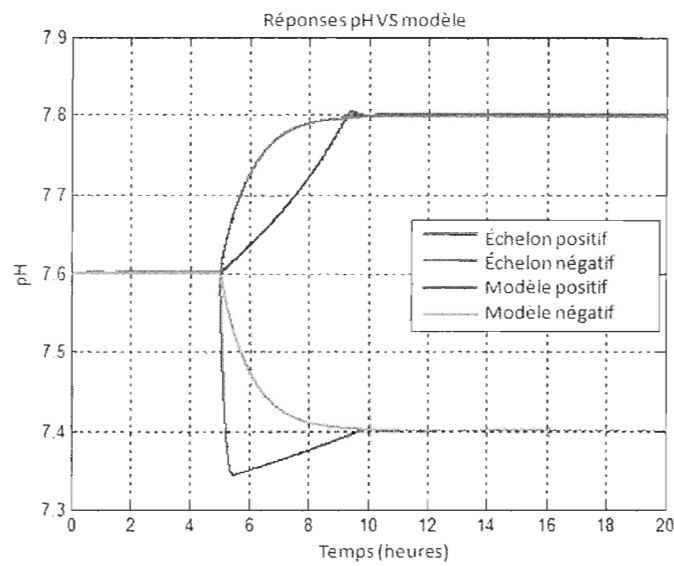


Figure 51 : Comparaison entre les dynamiques du pH de la culture et du modèle $H(s)$

Les deux prochaines sous-sections présentent les résultats de l'implémentation de la commande extrême en suivant la stratégie présentée dans Deschênes et St-Onge (2013). Deux types d'onde d'excitation sont testés : 1) onde de perturbation sinusoïdale et 2) onde de perturbation carrée.

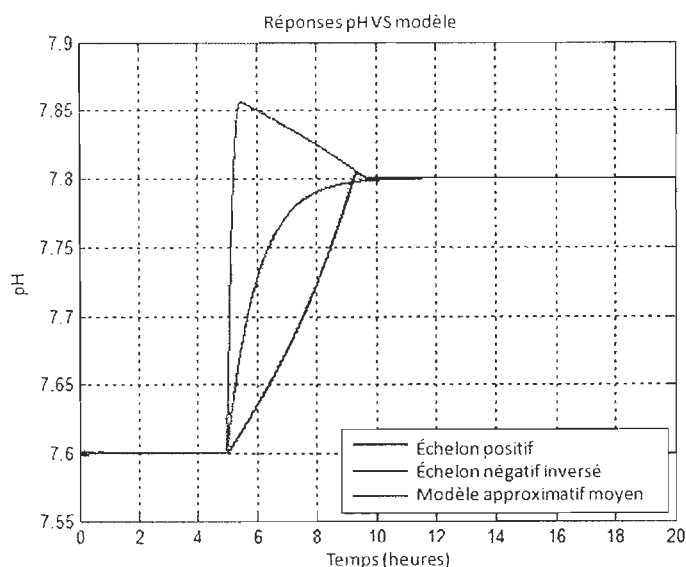


Figure 52 : Comparaison entre les dynamiques du pH de la culture et du modèle $H(s)$

4.1.3 Implémentation de la commande extrême avec onde sinusoïdale

L'algorithme de commande extrême a été implanté sur le simulateur (présenté au chapitre 4) afin de déterminer les réglages nécessaires qui offriront une bonne dynamique de convergence vers le pH optimal pour la croissance et qui pourront ensuite être transposés au procédé réel. Cette étape est nécessaire puisque l'algorithme de commande extrême est encore difficile à régler, et certains paramètres doivent encore être obtenus via une méthode d'essais-erreurs, ce que nous proposons de faire en utilisant le simulateur plutôt que le procédé physique lui-même.

Le gros avantage du simulateur est qu'il rend possible de tester rapidement différents réglages (un essai sur le simulateur dure moins d'une minute), à un coût nul, alors qu'en utilisant directement le système physique, chaque essai durerait plusieurs jours, en plus des coûts associés. Le simulateur permet donc d'importants gains de temps et des économies d'argent.

La Figure 53 et Figure 54 illustrent l'implantation de l'algorithme sur le simulateur, et le Tableau 2 indique les conditions initiales et d'opération utilisées pour la simulation.

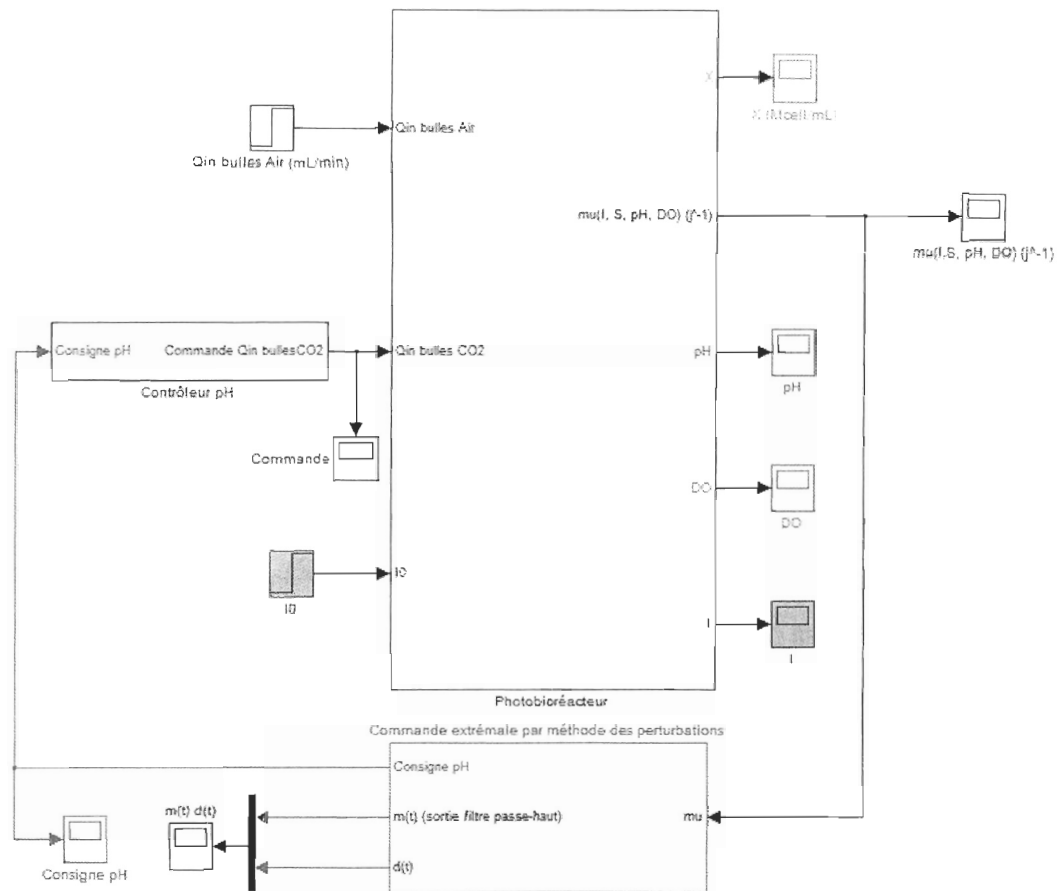


Figure 53 : Commande extrême appliquée au système

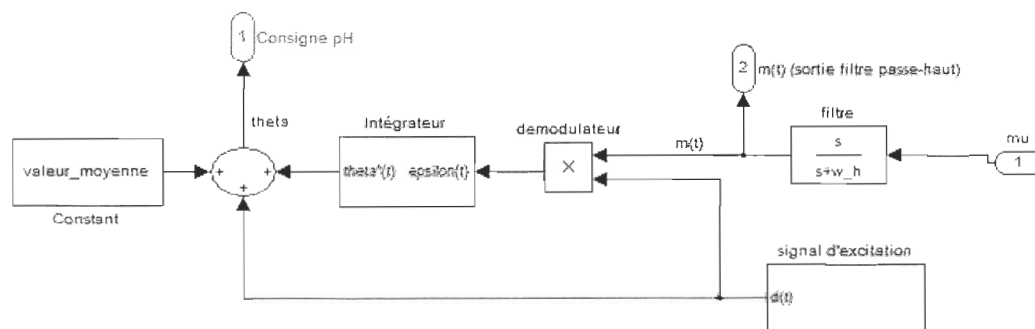


Figure 54 : Détails de «Commande extrême par méthode des perturbations»

Tableau 2 : Conditions initiales et d'opération pour la simulation d'optimisation du taux de croissance en fonction du pH

Conditions initiales des variables				$Q_{\text{in bulle air}}$ ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	I_0 ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	V (L)
X ($\text{Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$)	S ($\text{mM} \cdot \text{L}^{-1}$)	pH	DO (%)			
10	1,5	7,3	100	1000	200	27

La méthodologie développée dans un article conjoint par les auteurs du présent document Deschênes et St-Onge (2012) permet de déterminer la plupart des paramètres de l'algorithme qui pourra être appliqué au système. D'autres paramètres doivent être déterminés en quelque sorte par essais-erreurs, ce que la simulation permet rapidement et à faible coût. Pour résumer la méthodologie, les résultats de l'identification de la dynamique du système sont d'abord utilisés pour déterminer la fréquence d'oscillation ω du signal de perturbation sinusoïdal $d(t)$. Celle-ci a été réglée à $1 \text{ rad} \cdot \text{h}^{-1}$ et la fréquence de coupure ω_h du filtre passe-haut a été réglée à $0,414 \text{ rad} \cdot \text{h}^{-1}$. L'amplitude de variation du pH a été réglée à 0,2. Le gain k de l'action intégrale de l'algorithme (Figure 50) a été réglé à 100 (après quelques essais-erreurs en simulation).

Les résultats sont présentés sous forme de graphiques (réponses temporelles, Figure 55 et Figure 56). L'algorithme converge assez rapidement vers 7,8, qui correspond à la valeur optimale du pH fixée dans le modèle du simulateur (c'est cette valeur de pH que nous croyions jusque-là optimale pour la croissance de *Nannochloropsis oculata*). On remarque que le point d'opération est très stable (Figure 55) même si la valeur maximale du taux de croissance diminue au fil du temps (Figure 56). D'après ces résultats de simulation, on s'attendra donc à voir une convergence à environ un à deux jours après le lancement de la commande extrême sur les systèmes réels, ce qui est raisonnable comme durée d'expérience pour obtenir le résultat visé. À noter également qu'il n'y a pas de perte de performance significative observée dans ces simulations associée au fait que le système bouge autour de l'optimum au lieu de s'y stabiliser.

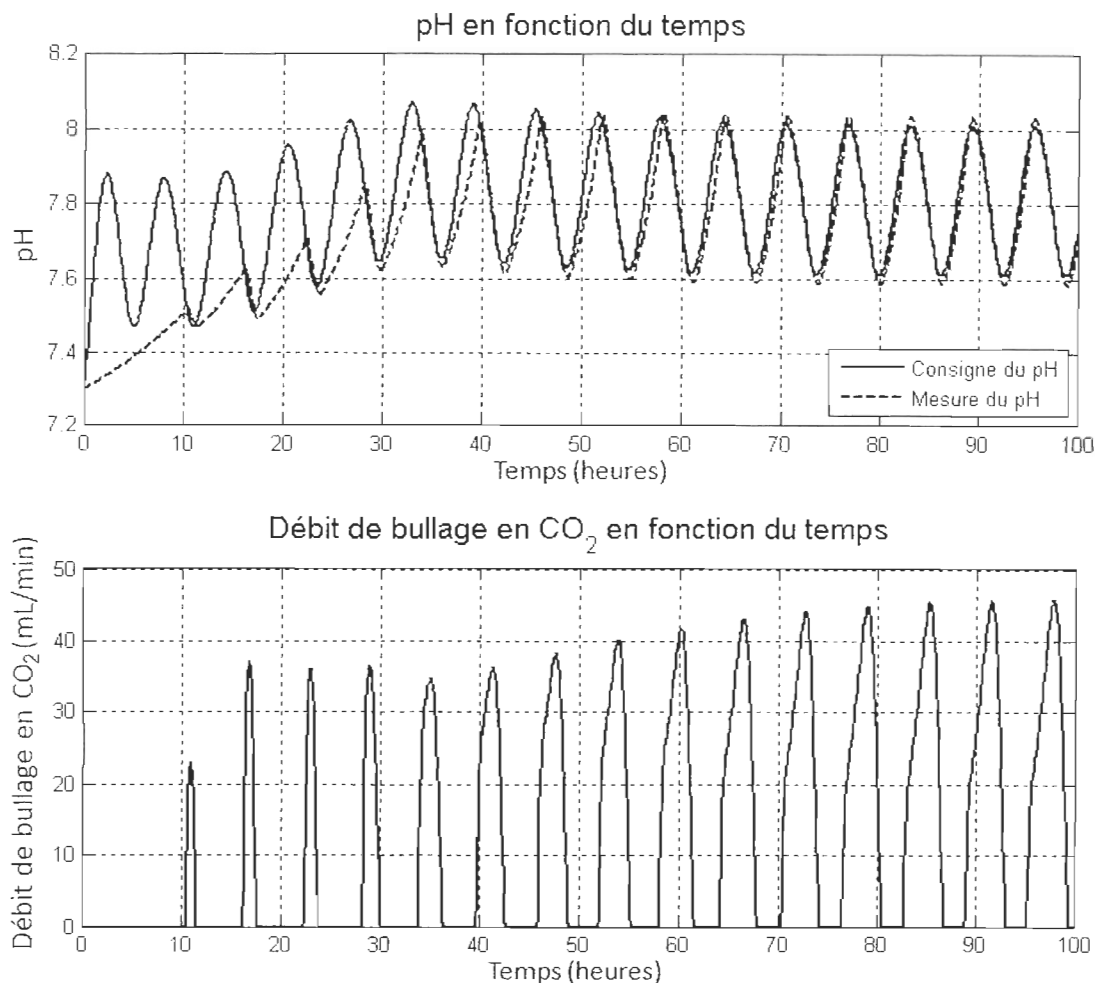


Figure 55 : Convergence du pH vers sa valeur optimale et commande de débit de bullage de CO_2 (avec onde de perturbation sinusoïde)

4.1.1 Implémentation de la commande extrême avec onde carrée

Selon la littérature, notamment dans Tan et al. (2008), il est reconnu que la vitesse de convergence de la commande extrême vers l'optimum est plus rapide lorsque le système est excité par une onde carrée que lorsqu'il l'est par une onde sinusoïdale. Un deuxième essai est alors tenté ici avec un signal de perturbation carré. Les paramètres de réglage sont les mêmes que dans le cas précédent, avec la forme d'onde sinusoïdale (Tableau 3).

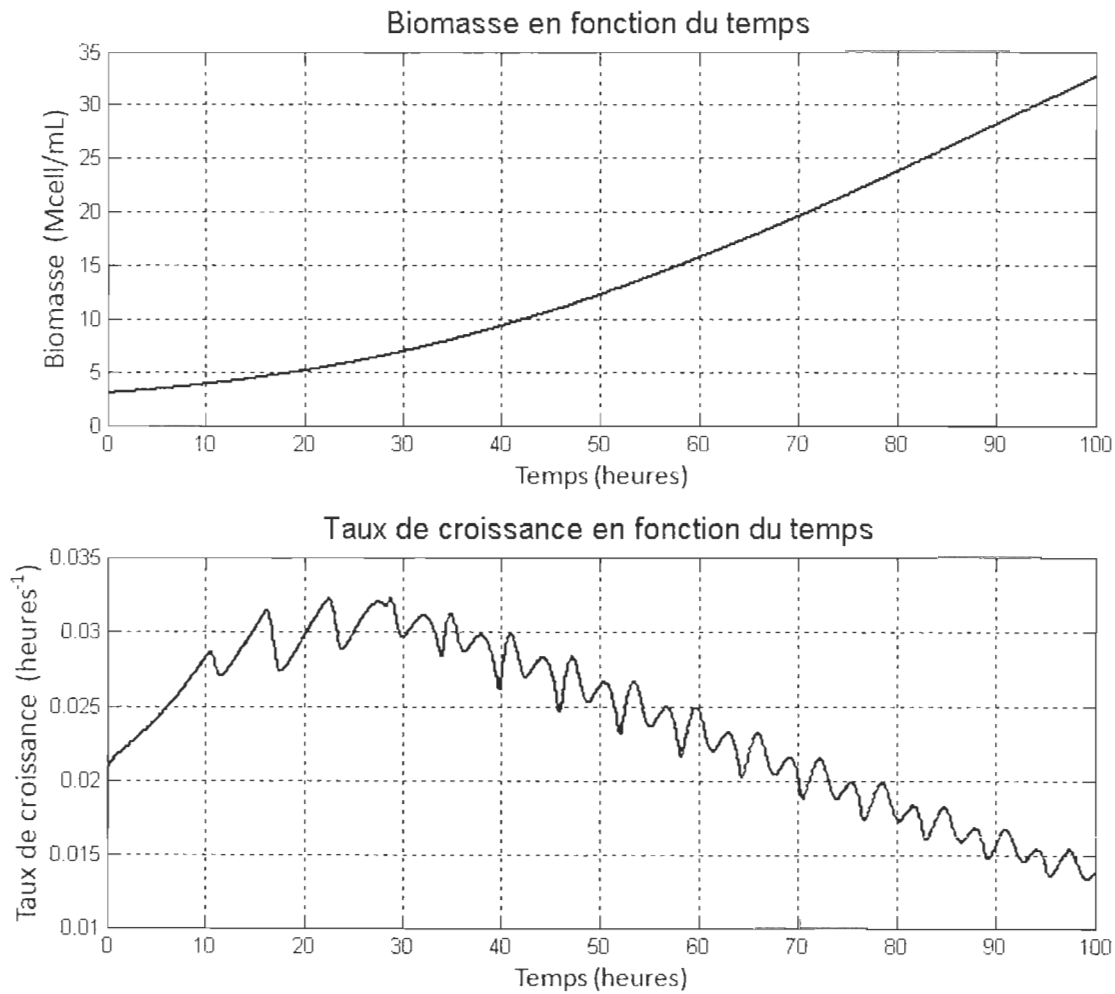


Figure 56 : Réponses de la biomasse et de la variable à optimiser (avec onde de perturbation sinusoïde)

Les résultats sont présentés sous forme de graphiques (réponses temporelles, Figure 57, Figure 58). L'algorithme converge tel qu'attendu à nouveau vers 7,8, la valeur de pH optimale programmée dans le modèle, et ce, environ 24 heures (T_{S2}) après le lancement de la commande extrême, ce qui est conséquent avec les attentes tirées de la littérature. Le point d'opération est également très stable (Figure 57) même si la valeur maximale du taux de croissance diminue encore au fil du temps (Figure 58).

Tableau 3 : Réglage #2 des paramètres de la commande extrémale

k	a	ω (rad·heure ⁻¹)	ω_h (rad·heure ⁻¹)	Valeur initiale	Type d'onde d'excitation
100	0,2	1	1,05	7,3	Carrée

4.2 EXPÉRIMENTATION DE L'OPTIMISATION DU TAUX DE CROISSANCE DES MICROALGUES EN FONCTION DU pH

4.2.1 Identification des dynamiques du système

Comme en simulation, l'identification du système a été faite en réalisant des échelons sur le débit de CO_2 et en mesurant le pH de la culture (section 2.6). La fonction de transfert $G_{pH}(s)$ (équation (26)), obtenue suite à cette identification à différentes concentrations cellulaires X , est de premier ordre (avec des constantes de temps variant entre 0,14 et 0,94 h). La constante de temps fixée pour le réglage de la boucle fermée est 0,1 h. Toutefois, le comportement du système varie dans le cas où le débit de CO_2 demandé entre en saturation (limitations minimale de 0 mL·min⁻¹ et maximale de 100 mL·min⁻¹). Alors, il a été nécessaire de faire une analyse plus approfondie de la boucle pour déterminer un modèle simple, valide en approximation et en moyenne pour l'ensemble des réponses obtenues. Cette analyse de la boucle de régulation du pH a mené au modèle suivant (base de temps en heures) (Figure 59) :

$$H(s) = \frac{1}{1 + 0,6s} \quad (71)$$

Suivant l'obtention de ces résultats, la prochaine section rapportera les résultats de l'implantation sur le système physique afin de valider l'approche.

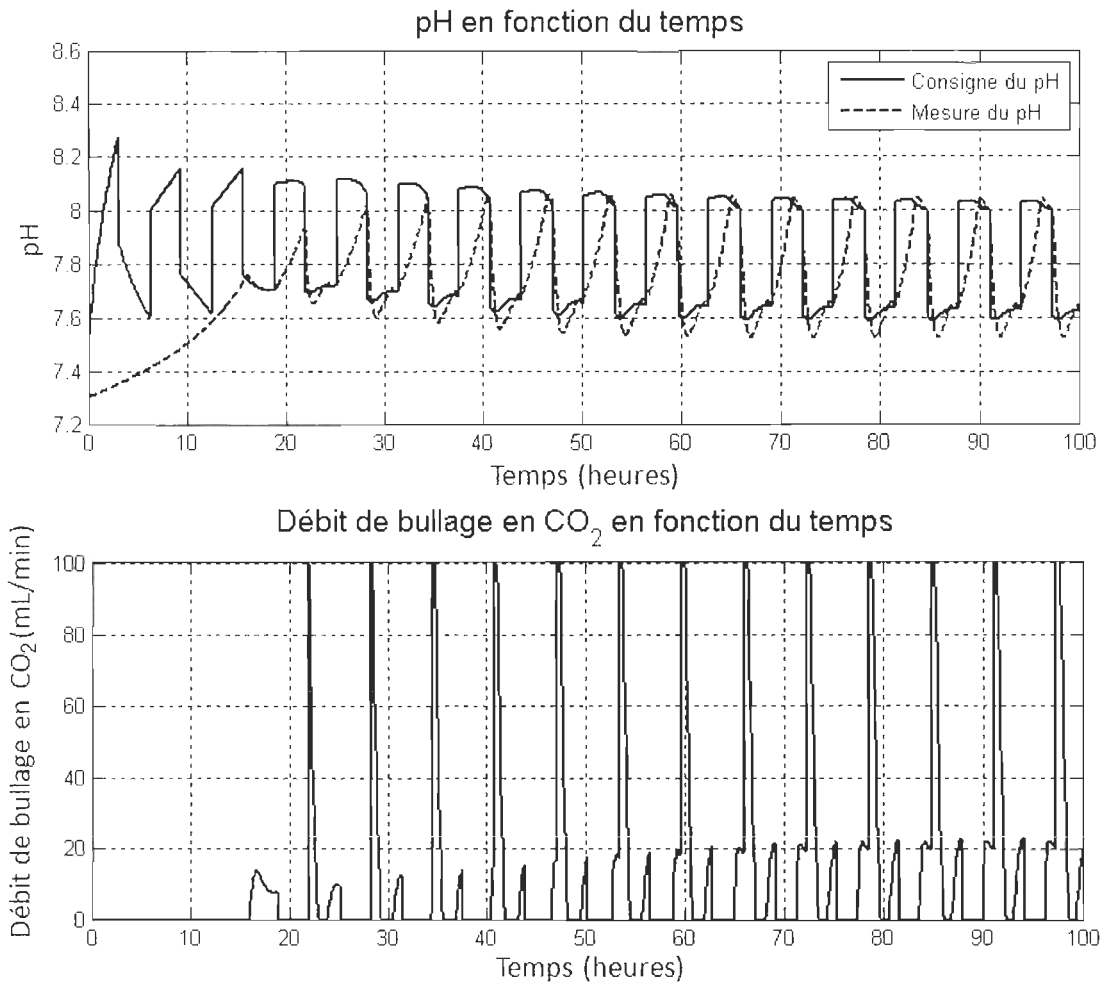


Figure 57 : Convergence du pH vers sa valeur optimale et commande de débit de bullage de CO_2 (avec onde de perturbation carrée)

En simulation, l'effet du pH sur la croissance est considéré « instantané ». Toutefois, ce n'est pas nécessairement le cas dans une culture de microalgues réelle. En effet, il est raisonnable de croire que le métabolisme de cette dernière a besoin d'une certaine période d'ajustement afin de s'adapter aux variations du pH. Aussi, les dynamiques liées aux deux sorties de capteur de biomasse (Figure 12) sont inconnues. Pour ces raisons, et afin d'assurer une meilleure robustesse des performances de la commande extrême (Deschênes et St-Onge 2012), le modèle utilisé en approximation de l'ensemble des parties dynamiques est :

$$F(s) = \frac{1}{1+s} \quad (72)$$

où la base de temps est en heures. $F(s)$ est la notation pour l'ensemble de la portion dynamique du système pour un modèle Wiener-Hammerstein (Figure 60). Puisque du point de vue des méthodes d'analyse non-linéaire employées (ex. : méthode de « moyennage ») une dynamique en entrée est équivalente à une dynamique en sortie, le fait de considérer l'ensemble des dynamiques en bloc est également équivalent.

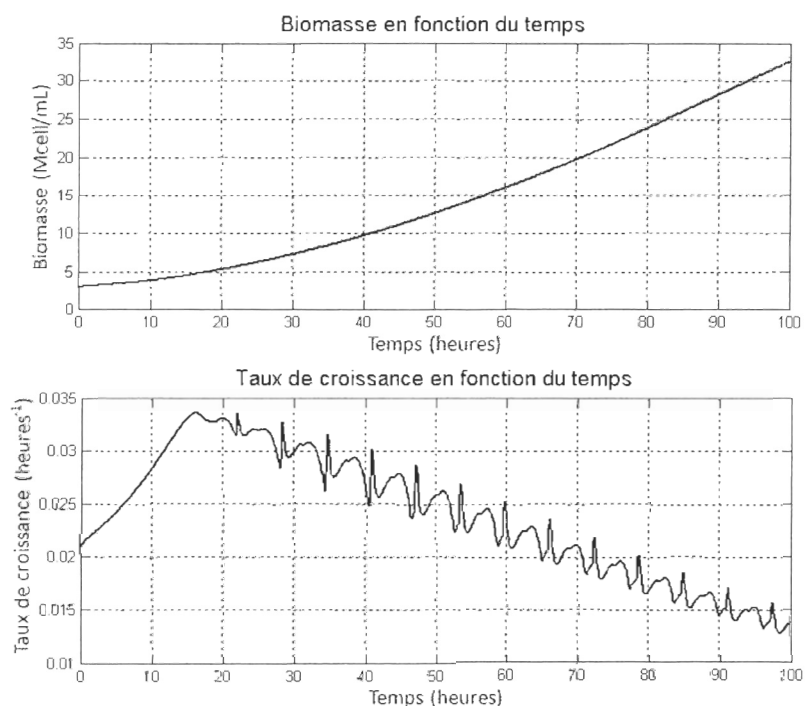


Figure 58 : Réponses de la biomasse et de la variable à optimiser (avec onde de perturbation carrée)

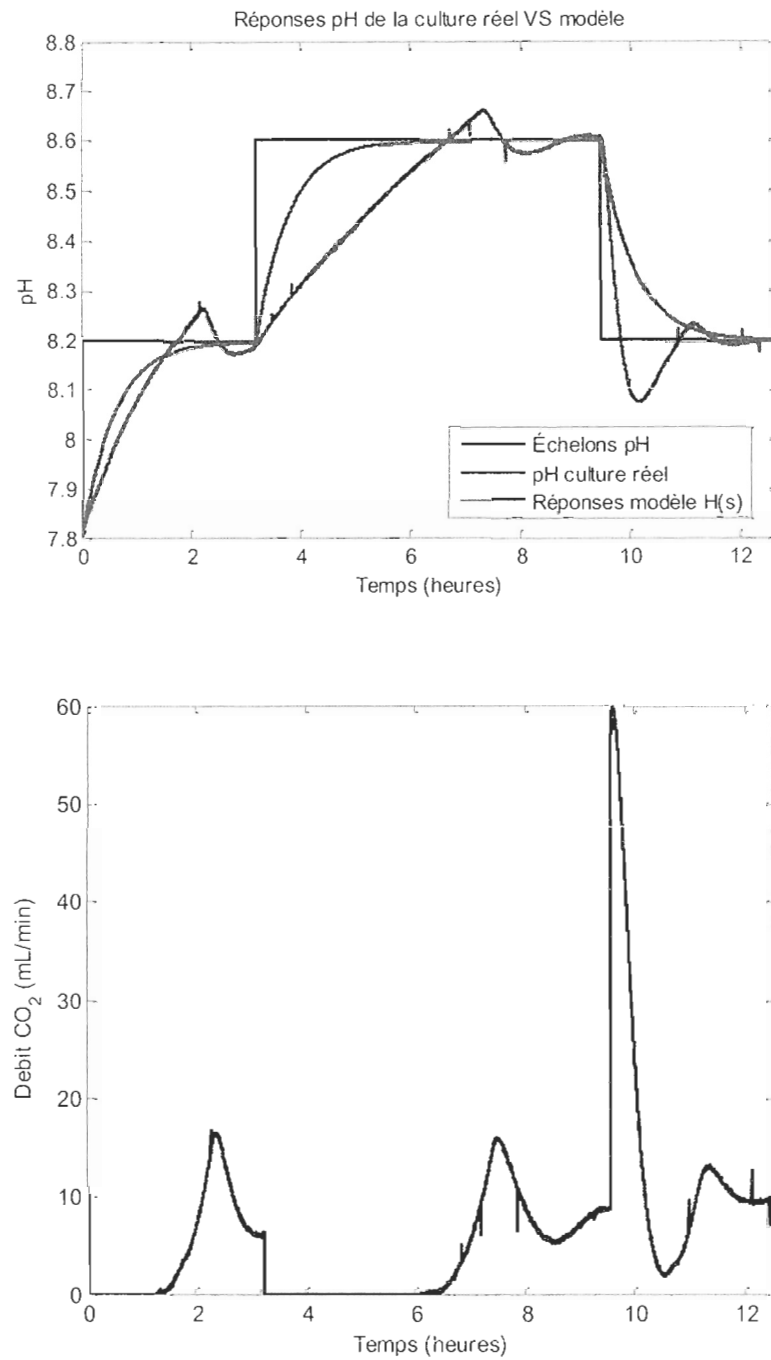


Figure 59 : Vérification du modèle $H(s)$ avec données du système réel

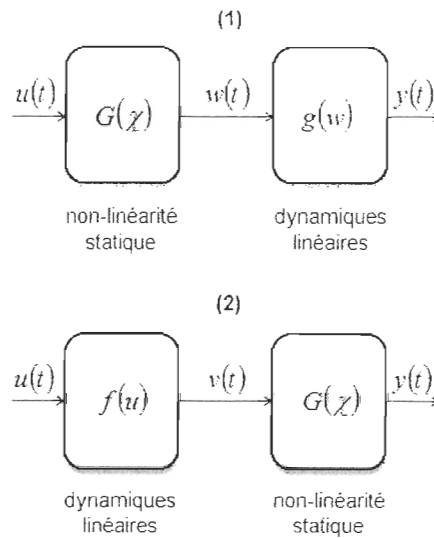


Figure 60 : Modèle Hammerstein (1) et modèle Wiener (2)

La prochaine sous-section présente les étapes de l'implémentation de la commande extrême sur le système physique. Elle est suivie des résultats expérimentaux avec l'onde sinusoïde, et finalement par une dernière sous-section où certains phénomènes particuliers ont été observés.

4.2.2 Implantation de l'algorithme de commande extrême dans l'automate programmable

L'implantation de l'algorithme de commande extrême dans l'automate programmable devait se faire en conformité avec les fonctions présentes dans le langage de programmation « Function Block Diagram » ou FBD disponible sous RSLogix5000, le logiciel de programmation de l'automate (section 2.3.5). La première étape consista donc à superposer un signal d'excitation périodique (dans un premier temps, de forme sinusoïdale) au signal de consigne de la boucle interne sur le pH (Figure 61). Celui-ci a été implanté essentiellement tel quel dans le logiciel RSLogix5000 pour générer le signal de consigne à la boucle du pH.

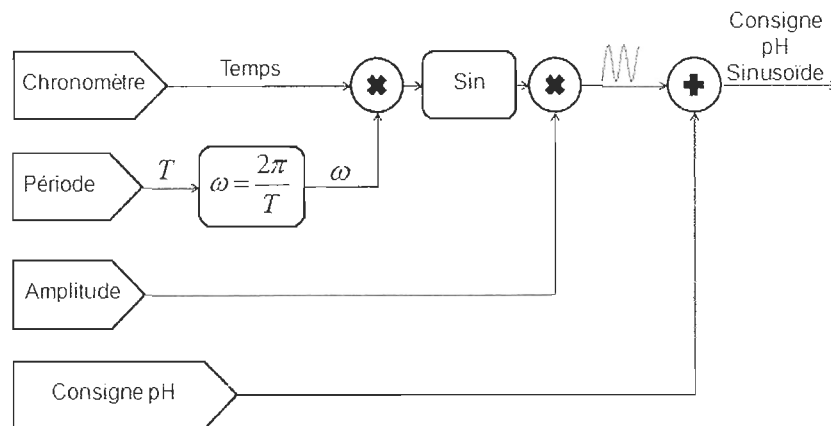


Figure 61 : Schéma-blocs de la consigne sinusoïde

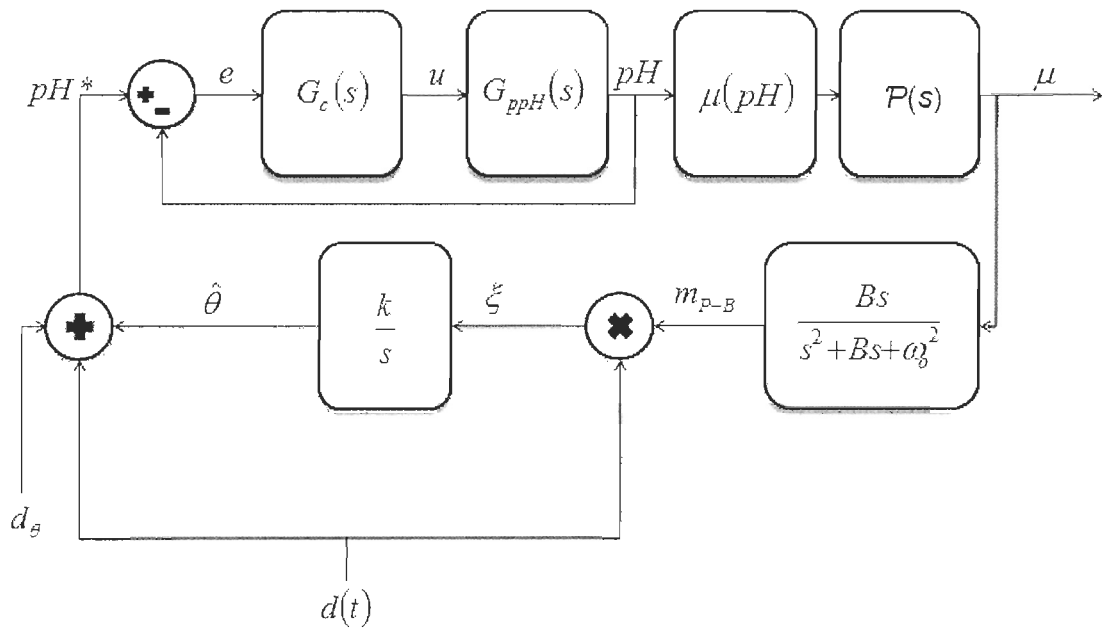
La prochaine étape a été d'implanter l'algorithme de commande extrême lui-même dans le logiciel de programmation de l'automate. Un aperçu du résultat est montré à la Figure 62 (à titre indicatif seulement), où l'on voit que le langage de programmation FBD est également sous forme de schéma-bloc, donc une programmation somme toute assez simple et visuelle.

4.2.3 Résultats expérimentaux avec l'onde de perturbation sinusoïdale

De premiers essais infructueux sur les systèmes ont nécessité quelques ajustements à l'algorithme. En effet, en n'utilisant qu'un filtre passe-haut avant l'étape de démodulation, l'importante présence de bruits aux hautes fréquences (qui n'étaient pas enlevée par l'action du filtre) empêchait la récupération efficace de l'information contenue dans le signal de sortie. Comme l'information nécessaire pour l'algorithme est en fait contenue à la fréquence d'oscillation de l'entrée (qui est connue et fixe), il a été décidé de remplacer le filtre passe-haut par un filtre passe-bande. Celui-ci permet à la fois de se débarrasser d'une bonne proportion des bruits aux hautes fréquences (ainsi que du contenu aux basses fréquences), sans affecter le contenu à la fréquence d'intérêt. L'utilisation d'un tel filtre ne permet cependant pas de compensation de phase comme dans Deschênes et St-Onge (2012), mais il

s'agit d'un compromis nécessaire pour réussir l'implantation en pratique. La fréquence centrale de ce filtre passe-bande (ω_o) a donc été réglée exactement à ω et sa bande passante B à $0,2\omega$. En choisissant une bande passante plus serrée, le comportement naturel du filtre entraîne des oscillations trop prononcées et trop près de la fréquence centrale ω , ce qui nuit également au comportement de la boucle de commande extrémale. Ce choix de 0.2ω a été également un compromis menant à des résultats acceptables pour la pratique (les résultats ont été testés en simulation, mais ne sont pas rapportés ici).

La Figure 62 présente la schématisation de l'algorithme de commande extrémale explicitant la fonction de transfert du filtre passe-bande dans la boucle de retour. Les notations des fonctions de transfert utilisées à la Figure 50 sont reprises ici pour représenter les mêmes éléments.



F

Figure 62 : Schématisation de l'algorithme de commande extrémale avec filtre passe-bande

Plusieurs essais ont été réalisés pour raffiner les choix de certains paramètres (dont le choix du filtre passe-bande plutôt que passe-haut) avant d'obtenir des résultats satisfaisants, i.e. qui convergent de façon répétable vers un optimum plausible. Les résultats fructueux

seulement sont présentés ici (Figure 63 à Figure 71). Dans ces trois situations, le pH converge dans les deux jours suivant le démarrage de l'implantation, tel qu'observé en simulation. Comme il était connu que le pH optimal était autour de 8, les résultats sont jugés acceptables. De plus, d'autres auteurs dans la littérature ont aussi déterminé (à l'aide d'une autre méthode) que le pH optimal pour *Nannochloropsis oculata* était autour de 8.4 (Spolaore et al. 2006), ce qui appuie davantage notre résultat.

Ces essais pratiques ont permis de tester différents scénarios d'implantation. En effet, dans le cas du résultat #1, le taux de croissance (Figure 63, Figure 64 et Figure 65) a été obtenu directement à partir du signal de dérivée provenant du capteur de biomasse (tel que mentionné au chapitre 3, le capteur utilisé possède deux sorties : un signal pour la biomasse, et un autre signal reflétant la dérivée du signal de biomasse). Dans le cas des résultats #2 et #3, seul le signal de biomasse provenant du capteur a été utilisé, et sa dérivée a été obtenue en utilisant un filtre dérivateur (passe-haut de premier ordre, permettant ainsi de dériver et de filtrer le signal obtenu en une seule étape) dans la programmation de RSLogix5000. L'idée de cette façon de faire était de voir si la méthode pouvait être appliquée à d'autres capteurs de biomasse ne possédant pas de sortie pour la dérivée du signal de biomasse. Les résultats pour ces deux essais sont montrés aux Figure 66, Figure 67 et Figure 68 (résultat # 2) et aux Figure 69, Figure 70 et Figure 71 (résultat #3) et démontrent que le système converge adéquatement de façon répétable vers l'optimum déterminé.

4.2.1 Observation de phénomènes particuliers

À quelques reprises sur les essais pratiques, une valeur à laquelle le pH convergerait se situait autour de 6,8 (Figure 74 et Figure 77). Dans ces situations, les conditions physiologiques des microalgues dans la culture semblaient se modifier en devenant notamment jaunâtre (plutôt que verdâtre) assez rapidement. Le taux de croissance demeurerait quand même comparable (avec l'obtention d'un très bon taux de croissance) aux résultats des sections précédentes (avec convergence à 7,8), ce qui laisse suggérer que la véritable relation entre le pH et le taux de croissance possède de multiples optimums (2), mais favorisant des

états physiologiques différents. Dans la littérature, une importante variabilité dans les résultats trouvés comme pH optimal chez *Nannochloropsis oculata*, allant de 6,75 à 9,2 (Abu-Rezq et al. 1999; Brown et al. 1999; Lourenço et al. 2002) peut aussi laisser suggérer ce phénomène.

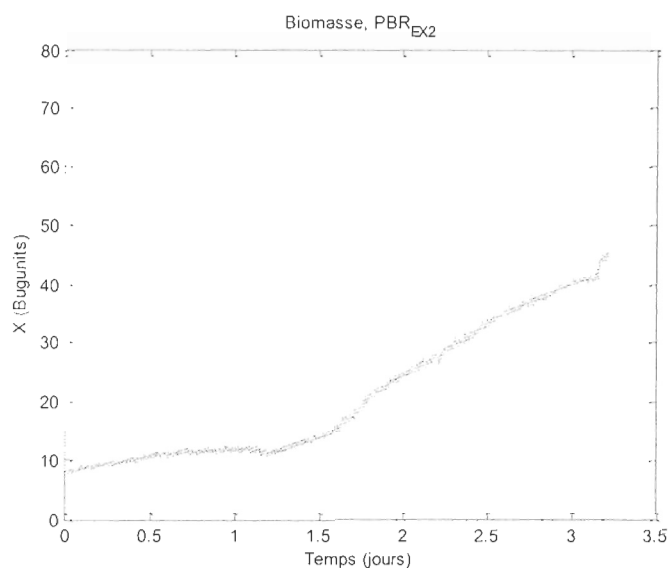


Figure 63 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 1)

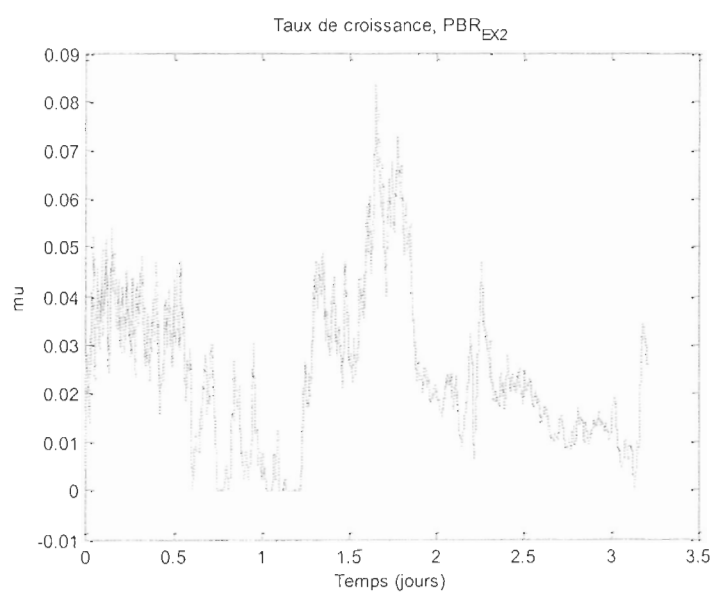


Figure 64 : Sortie à optimiser, taux de croissance mesuré en fonction du temps (résultat # 1)

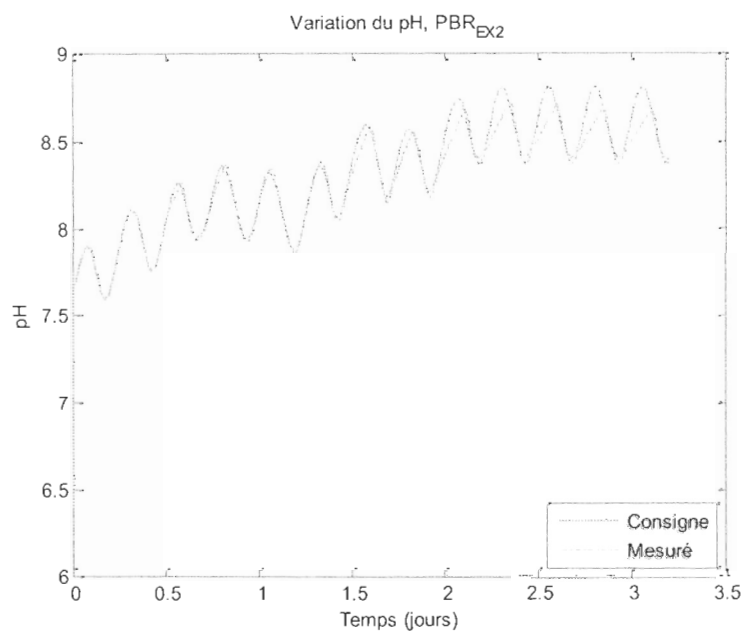


Figure 65 : Consigne et valeur mesurée du pH en fonction du temps (résultat # 1)

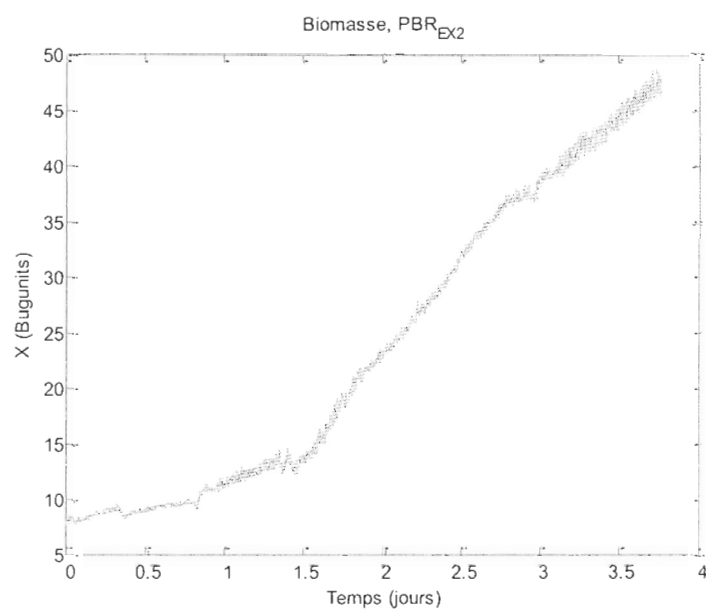


Figure 66 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 2)

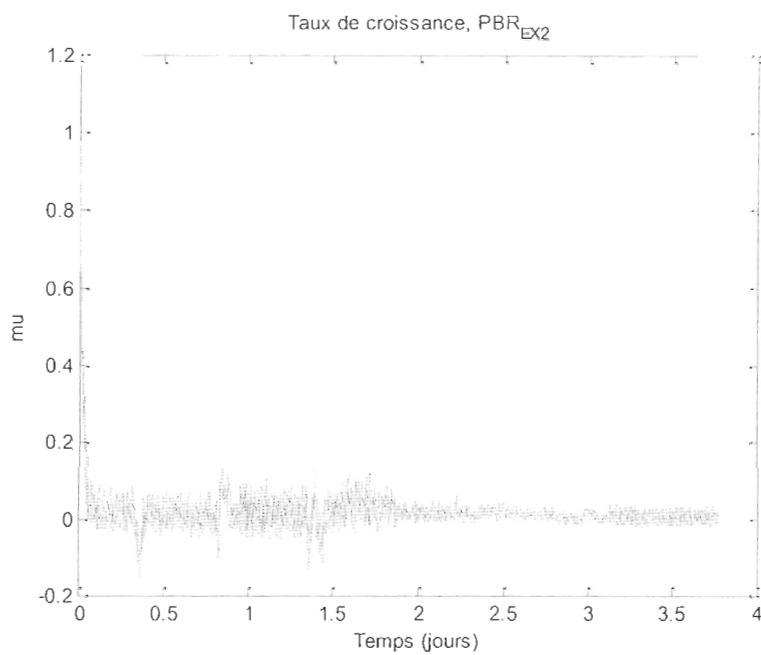


Figure 67 : Sortie à optimiser, taux de croissance mesuré en fonction du temps (résultat # 2)

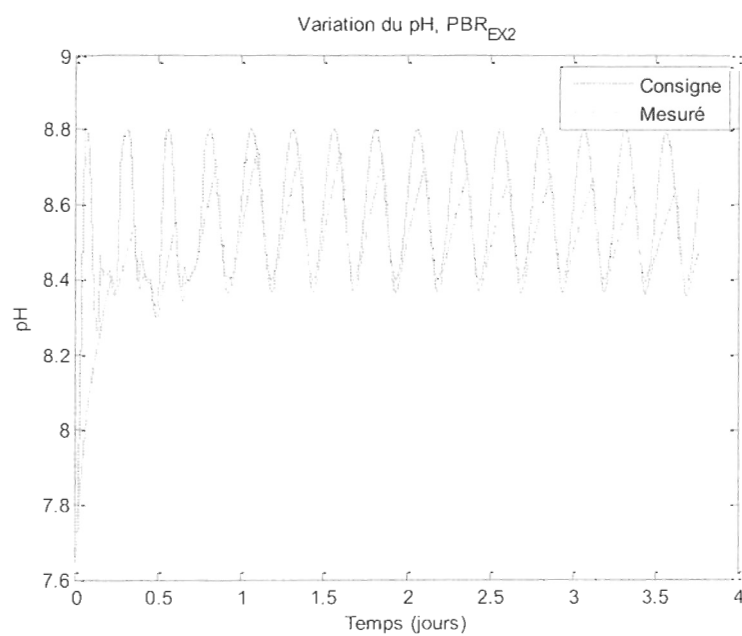


Figure 68 : Consigne et valeur mesurée du pH en fonction du temps (résultat # 2)

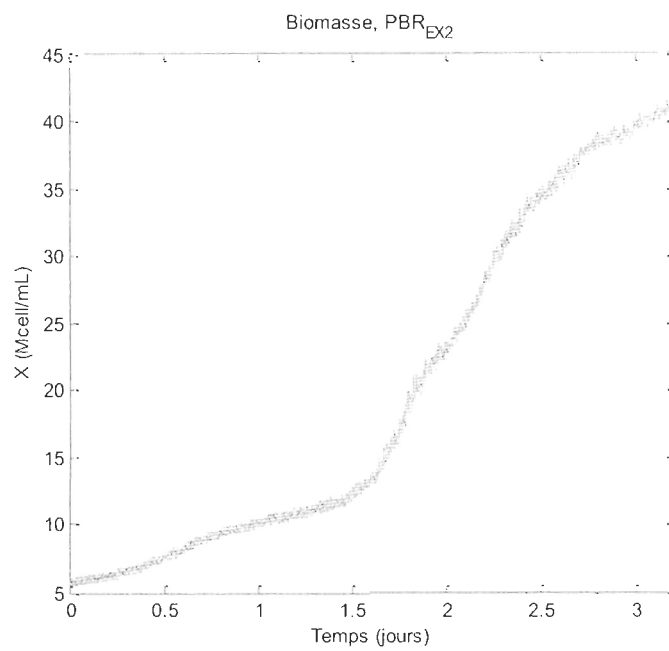


Figure 69 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 3)

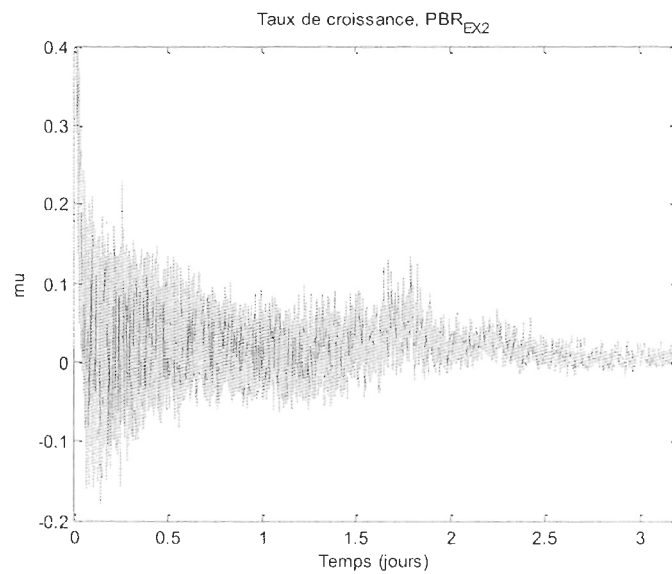


Figure 70 : Sortie à optimiser, taux de croissance en fonction du temps (résultat # 3)

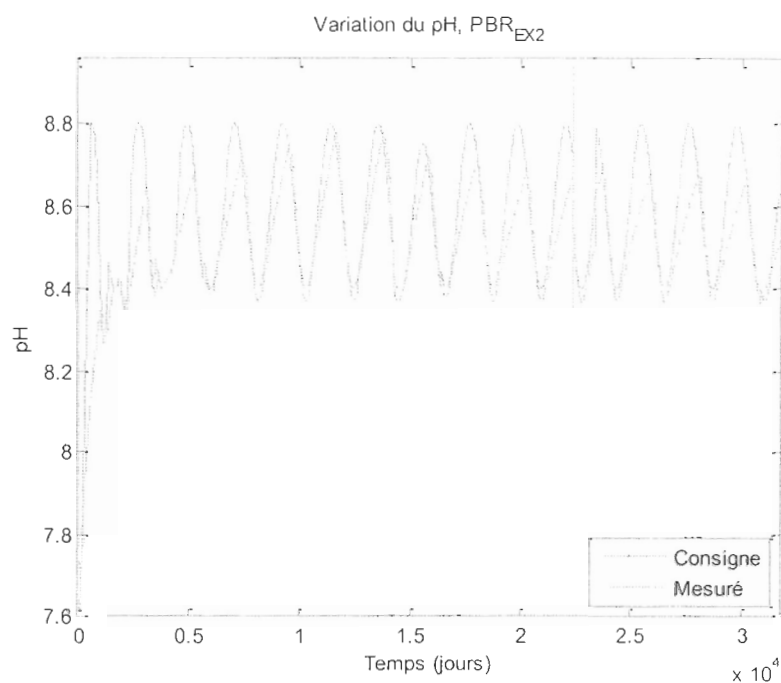


Figure 71 : Consigne et valeur mesurée du pH en fonction du temps (résultat # 3)

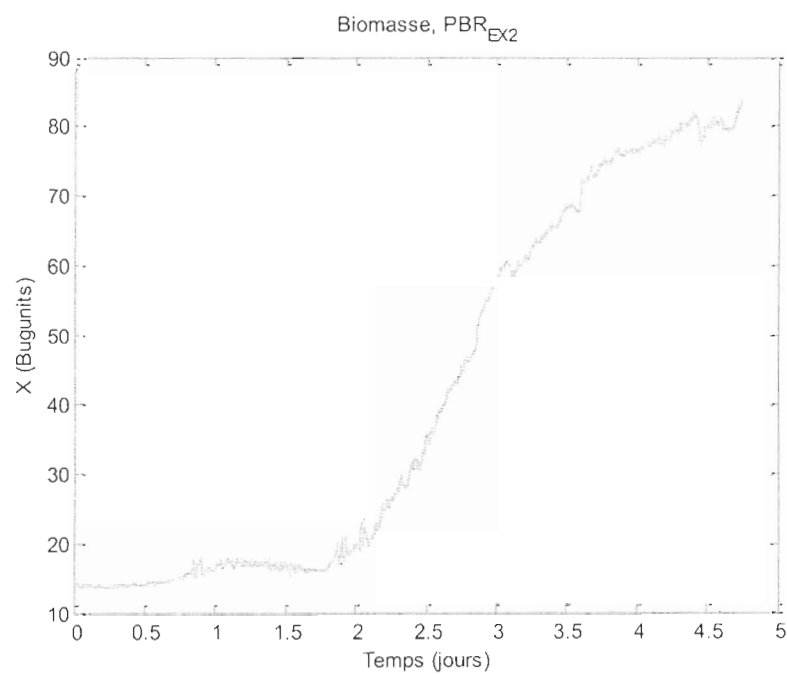


Figure 72 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 4)

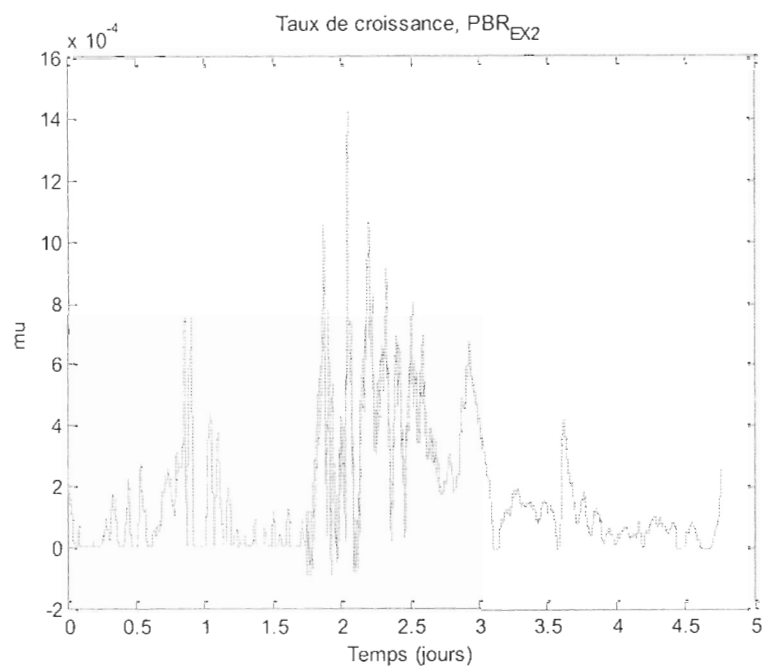


Figure 73 : Sortie à optimiser, taux de croissance en fonction du temps (résultat #4)

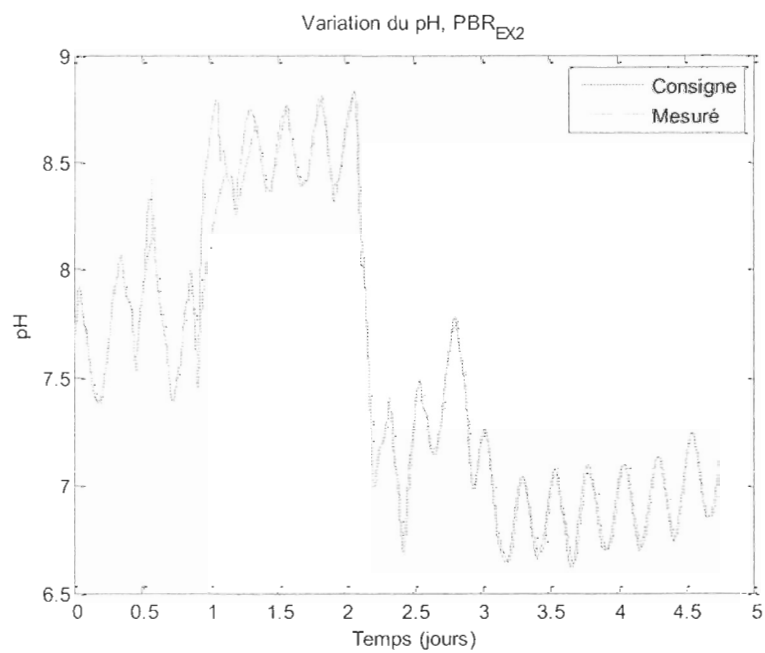


Figure 74 : Convergence du pH vers valeur en dessous de 7 (résultat #4)

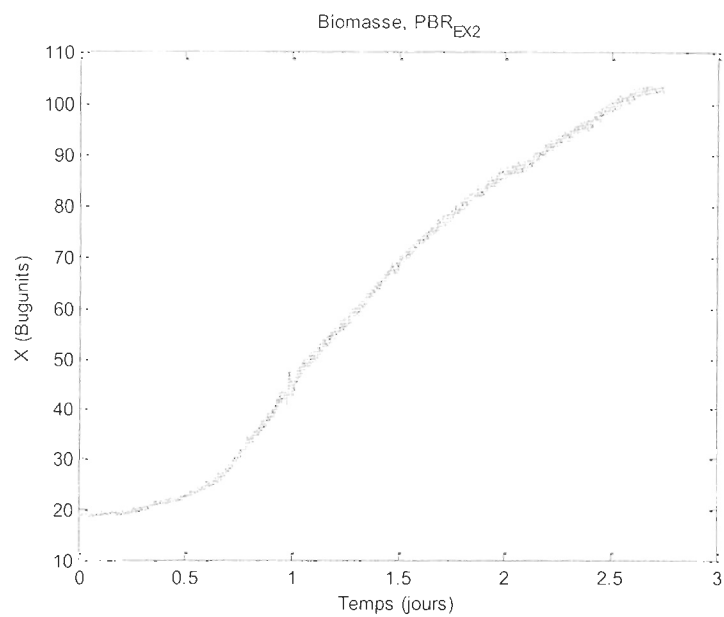


Figure 75 : Concentration cellulaire mesurée en fonction du temps (résultat # 5)

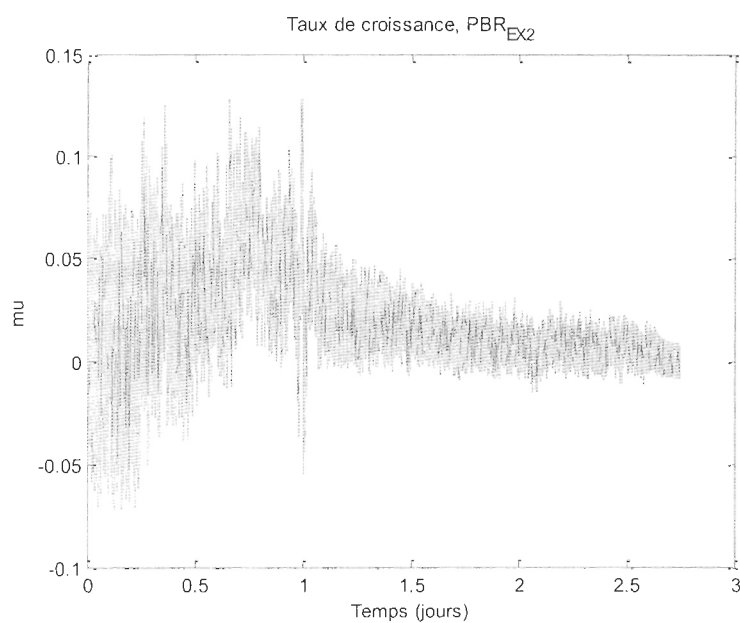


Figure 76 : Sortie à optimiser, taux de croissance en fonction du temps (résultat #5)

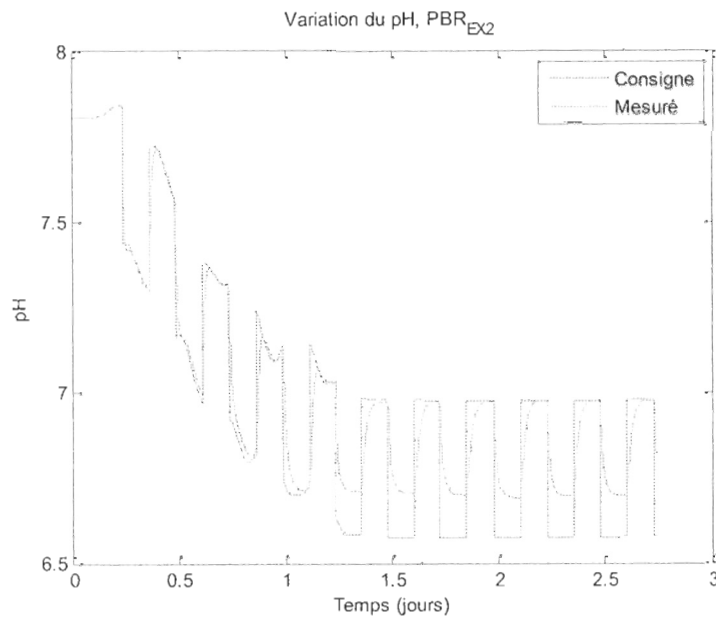


Figure 77 : Convergence du pH vers valeur en dessous de 7 (essai #5)

4.3 OPÉRATION EN MODE CONTINU ET OPTIMISATION DE LA PRODUCTIVITÉ PAR LA COMMANDE EXTRÊMALE EN SIMULATION

Cette section présente d'abord brièvement l'influence du taux de dilution dans une culture en continu afin de mieux illustrer son rôle dans l'optimisation du système. La caractérisation du procédé est ensuite détaillée afin d'exposer la méthodologie utilisée pour le réglage de la boucle de commande extrême. Pour terminer, les résultats de l'implémentation en simulation de cette dernière sont montrés.

4.3.1 Mode d'opération continu et effet du taux de dilution

L'opération en mode continu d'un photobioréacteur offre des avantages intéressants pour la production de microalgues. En effet, ce mode d'opération permet d'obtenir une meilleure stabilité (tant sur le plan quantitatif que qualitatif) des conditions de culture, donc des cultures de microalgues (Borowitzka 1997) que les modes « batch » ou semi-continu. De plus, ce mode est généralement plus automatisé, ce qui permet de réduire le nombre

d'opérations manuelles (donc la main d'œuvre) nécessaires pour l'opérer. La variable manipulée dans le mode de récolte continu est le taux de dilution D (heure⁻¹), égal au ratio du débit traversant le système à son volume d'opération (le débit d'entrée est égal au débit de sortie). Ce dernier a donc un impact direct sur la concentration cellulaire X (Mcell·mL⁻¹), puisqu'il vidange directement le bioréacteur, en affectant donc de très près la productivité de la culture (Alonso et al. 2000). Il permet donc de se positionner à un endroit précis sur la courbe de croissance normale de l'espèce (Figure 34), et de s'y maintenir de façon prolongée pour la produire.

Les sous-sections suivantes présentent les étapes suivies pour la mise en œuvre de la commande extrême en simulation et les résultats obtenus.

4.3.2 Caractérisation du système et réglage des boucles de base

La stratégie établie pour l'implantation de la commande extrême sur le système en mode continu comprenait l'utilisation de boucles de contrôle sur la concentration cellulaire et le volume d'opération. Le contrôle du volume servait à garantir l'équilibre entre les débits d'entrée et de sortie (et donc la manipulation directe du taux de dilution D) et le contrôle de la concentration en biomasse X permettait de réagir promptement à toute situation pouvant affecter cette dernière (notamment pour éviter toute situation de « wash-out » possible, ou une accumulation trop importante de biomasse qui viendrait en limiter la croissance). Cette boucle permet également de garder une poigne directe sur la variable d'intérêt à la base de la productivité du système (en biomasse), cette dernière étant définie par le produit de D et X . La variable manipulée pour la boucle contrôlant la concentration cellulaire est le débit de récolte (débit de sortie du bioréacteur). La consigne (« set point ») de cette boucle sera ensuite utilisée comme variable manipulée utilisée dans l'algorithme de commande extrême. La Figure 78 présente la stratégie envisagée sous la forme d'un schéma-bloc simplifié, en illustrant plus clairement la situation et la variable qui sera optimisée.

À la Figure 78, le signal e représente l'erreur entre la consigne X^* et la mesure de la concentration en biomasse X , et $G_c(s)$ est la fonction de transfert du contrôleur de type PI. $G_{pX}(s)$ est la fonction de transfert de premier ordre (relation dynamique) entre le taux de dilution et la concentration en biomasse (gain statique K_{pX} (Mcell·h·mL⁻¹) et constante de temps τ_{pX} (h)) ;

$$G_{pX}(s) = \frac{-1}{1 + 40s}$$

et G_{pD} est la relation dynamique entre la commande du débit de sortie du photobioréacteur et le taux de dilution. À noter que dans le cas présent du simulateur, la variable manipulée u correspond directement au débit de sortie du bioréacteur, donc la relation dynamique due à une boucle de rétroaction pour cette variable est instantanée. Afin de régler les paramètres de $G_c(s)$, la procédure présentée dans Pomerleau et Poulin (1996) est utilisée avec une spécification de constante de temps rapide de 0,5 h (la plus rapide et réalisable sur le système physique de la prochaine section) en boucle fermée :

$$G_c(s) = \frac{-1(1 + 40s)}{40s}$$

Toutefois, le système agit souvent en boucle ouverte (lorsque la concentration cellulaire X doit être augmentée, la variable manipulée entre en saturation à 0 mL·min⁻¹). Alors la dynamique est moins rapide que préalablement anticipé (0,5 h). Des réponses à l'échelon sur la boucle fermée (de 30 à 33 et 30 à 27 (Figure 79 et Figure 80)) ont été effectuées afin de caractériser le comportement moyen de celle-ci. Le résultat en base de temps en heure est :

$$H(s) = \frac{G_c(s) \cdot G_{pD}(s) \cdot G_{pX}(s)}{1 + G_c(s) \cdot G_{pD}(s) \cdot G_{pX}(s)} \approx \frac{1}{1 + s} \quad (73)$$

La prochaine sous-section présente les réglages et les résultats de l'implémentation de la commande extrême sur le modèle en simulation.

4.3.3 Simulation de la commande extrême par la méthode des perturbations

Cette section présente la stratégie de commande extrême implantée en simulation visant à déterminer l'optimum de productivité du système en mode continu. Les résultats obtenus seront ensuite utilisés pour être appliqués à la section suivante, où il est question du système physique.

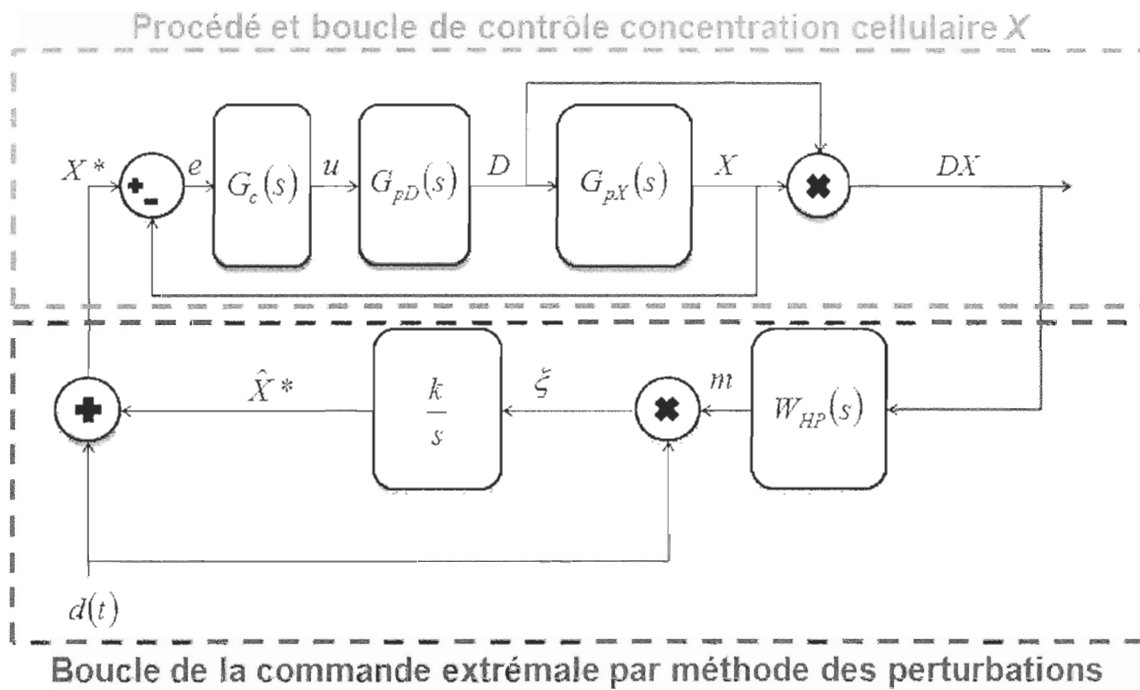


Figure 78 : Commande extrême appliquée au système (schéma-blocs)

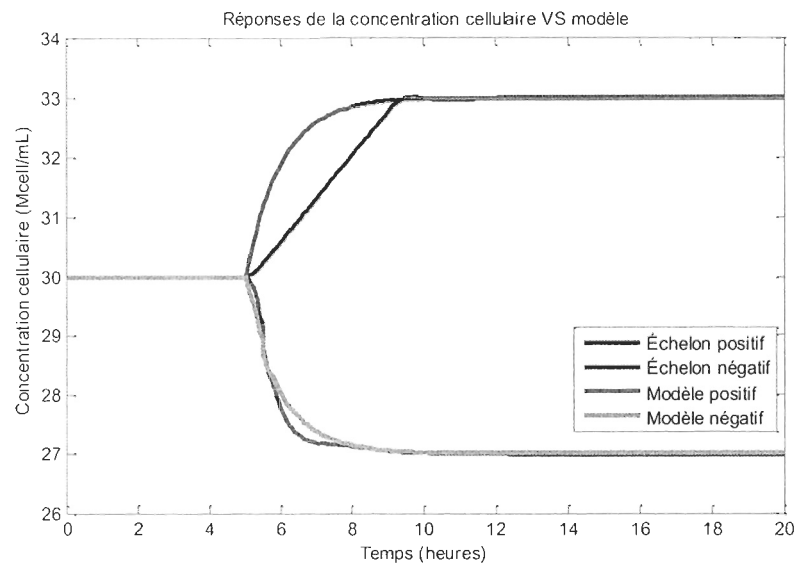


Figure 79 : Comparaison entre les dynamiques de la concentration cellulaire de la culture et du modèle $H(s)$

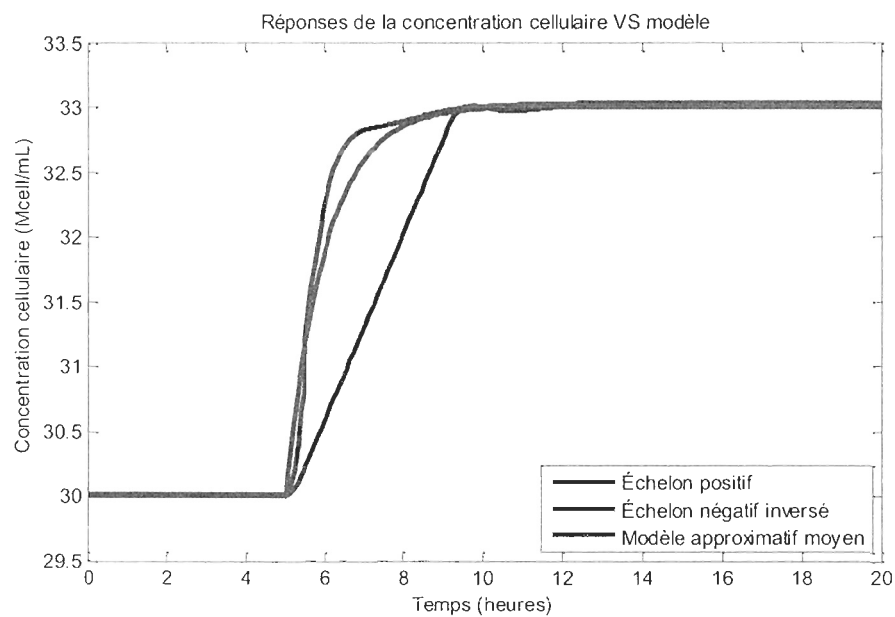


Figure 80 : Comparaison entre les dynamiques de la concentration cellulaire de la culture et du modèle $H(s)$

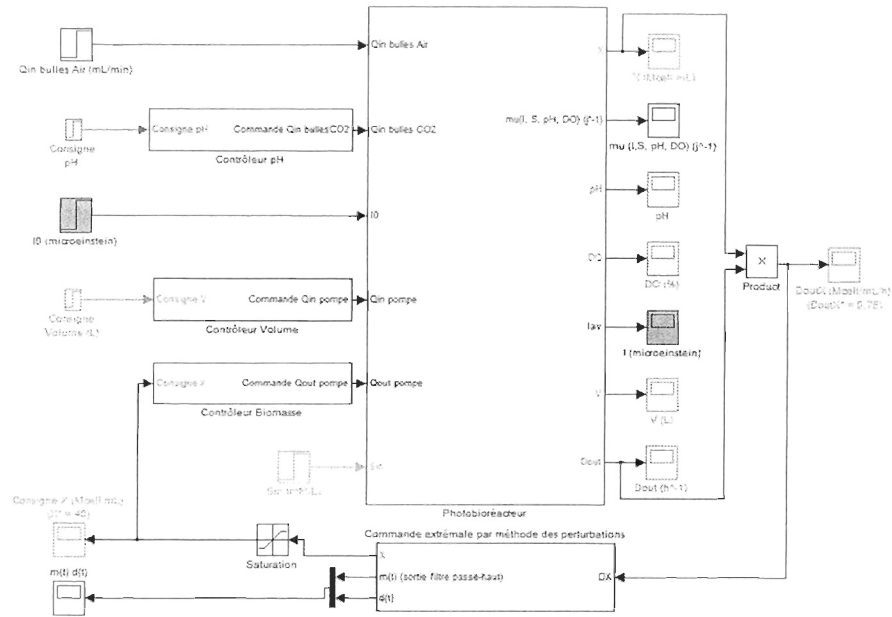


Figure 81 : Commande extrême appliquée en simulation

Pour cette situation, la méthodologie utilisée plus tôt pour le réglage des paramètres de la commande extrême (section 4.1.3) doit être adaptée puisque la structure mathématique du système pour ce mode d'opération ne respecte plus la forme Wiener-Hammerstein (Figure 60). En se basant néanmoins partiellement sur la précédente méthodologie (Deschênes et St-Onge 2012), sur Chioua et al. (2007) ainsi que sur Favache et al. (2008), un premier réglage fonctionnel a été déterminé. La fréquence choisie pour l'onde de perturbation sinusoïdale $d(t)$ a été réglée à $\omega = 0,076 \text{ rad}\cdot\text{h}^{-1}$ (période T de 80 heures, soit environ 10 fois plus lent que la dynamique naturelle du pôle dominant du procédé). La fréquence de coupure du filtre passe-haut a été réglée à $0,8\omega$ (donc $\omega_h = 0,06 \text{ rad}\cdot\text{h}^{-1}$), soit un compromis entre l'efficacité de rejet des basses fréquences dans le signal de sortie, et la rapidité de rejet de la fréquence DC (fonction de la constante de temps de ce filtre passe-haut) ajusté assez près de la fréquence fondamentale du signal d'excitation. L'ordre de grandeur de la concentration cellulaire X optimale attendue étant dans les dizaines (d'après l'expérience des gens chez NutrOcéan, on s'attendra à un optimum autour de $35 \text{ Mcell}\cdot\text{mL}^{-1}$ pour *Nannochloropsis oculata*), l'amplitude de la variation de consigne de la biomasse a donc été fixée à 3 (ordre de 10^0), afin d'obtenir un compromis entre une excitation suffisante et une précision intéressante

du résultat. Après une série d'essais-erreurs, les meilleurs résultats ont été obtenus avec un gain $\delta = 4$ (et donc $k = 4\omega = 0,3$). Les résultats obtenus avec le modèle en simulation (Figure 82) montrent un résultat optimal approximativement similaire à ce qui était observé par les gens de NutrOcéan, soit une concentration cellulaire entre 35 et 40 Mcells·mL⁻¹. On note toutefois que la convergence de l'algorithme vers l'optimum est très lente, ce dernier étant atteint seulement après plus de 60 jours (Figure 82 et Figure 83). En effet, les méthodes basées sur une mesure de la fonction objective nécessitent un temps de convergence extrêmement long à cause de la triple séparation des échelles de temps (Chioua 2008).

4.4 RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX EN MODE CONTINU

Comme en simulation, l'identification du système a été faite en réalisant des échelons sur le débit de sortie du bioréacteur et en mesurant la concentration cellulaire de la culture à partir du capteur optique (Figure 12). La fonction de transfert $G_{pX}(s)$ (équation (29)), obtenue suite à cette identification à différentes concentrations cellulaires X , est de type intégrateur avec délai. La constante de temps fixée pour le réglage de la boucle fermée est 0,5 h.

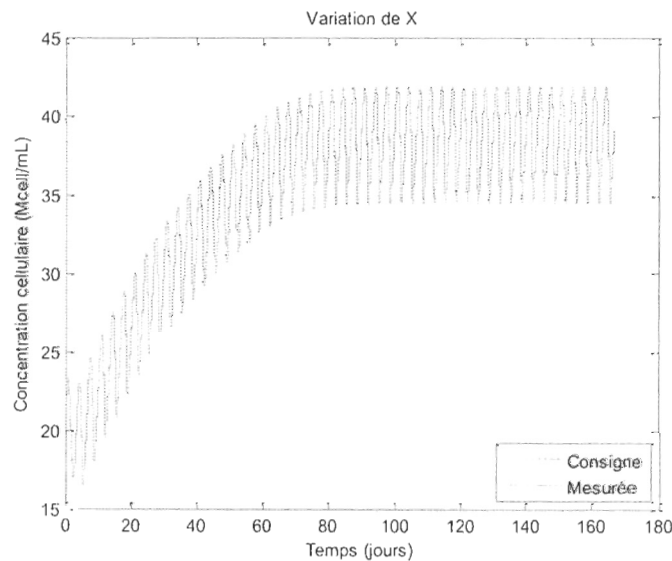


Figure 82 : Convergence de la concentration cellulaire en mode continu (avec période de 80h)

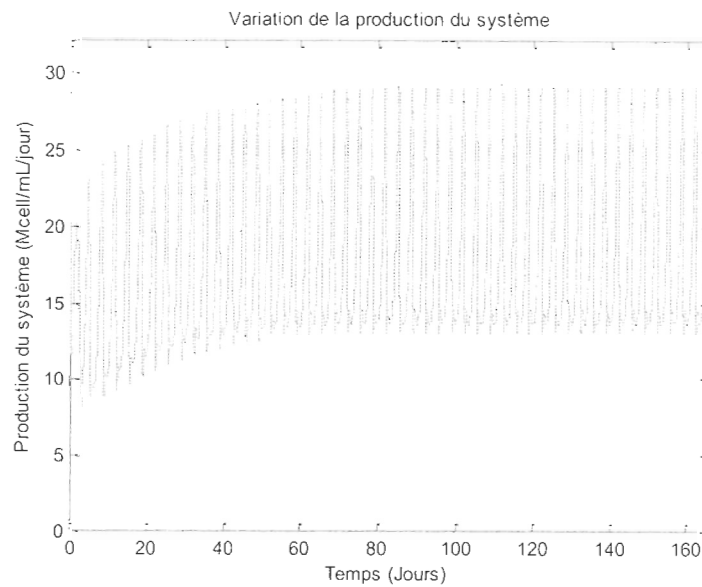


Figure 83 : Convergence de la productivité du système en mode continu (avec période de 80 h)

Toutefois, le comportement effectif du système en boucle fermée varie dans le cas où le débit de sortie du bioréacteur demandé entre en saturation (limitations minimale de 0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et maximale de 2000 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$), comme dans plusieurs exemples présentés précédemment. Il a donc encore une fois été nécessaire de faire une analyse plus approfondie de la boucle pour déterminer un modèle simple, valide en approximation et en moyenne pour l'ensemble des situations où le modèle sera utilisé.

Un premier test échelon (positif puis négatif) a été réalisé, menant au résultat présenté à la Figure 84. On voit que pendant l'échelon positif (où aucune action n'est possible via le débit de sortie pour affecter la biomasse), la dynamique est assez lente, et correspond à la dynamique de croissance naturelle de la biomasse. Cependant, lors d'une action du débit de sortie (échelon négatif), la dynamique est assez rapide, et la biomasse franchit sa consigne en une fraction d'heure avant de revenir à celle-ci, de deux à trois heures plus tard. C'est finalement surtout cette dynamique qui a été retenue pour modéliser la boucle, mais avec un comportement intermédiaire (comme plus tôt, soit d'une forme de premier ordre) pour approcher le comportement « moyen » du système. Le résultat brut de cet échelon positif a

été écarté en raison que pour la situation pratique visée (commande extrême), de telles variations de la biomasse ne seraient jamais exigées. Le modèle suivant (base de temps en heures) a donc été retenu en approximation au comportement du système :

$$H(s) = \frac{1}{1 + 0,5s} \quad (74)$$

Pour s'assurer que le modèle tienne la route en situation plus « plausible » de son utilisation, un test de consigne sinusoïde a été réalisé. Suivant le raisonnement présenté à la section précédente (étude en simulation), une fréquence d'oscillation 10 fois plus lente que le pôle dominant de $H(s)$ (au minimum) doit être choisie pour le signal d'excitation $d(t)$. Ce pôle étant à $2 \text{ rads}\cdot\text{h}^{-1}$, on peut choisir $\omega = 0,2 \text{ rads}\cdot\text{h}^{-1}$, ce qui correspond à une période de 31,4 h. La période choisie a été plutôt arrondie à 36 h, donc $\omega = 0,175 \text{ rads}\cdot\text{h}^{-1}$. La Figure 85 montre d'une part que le comportement du modèle $H(s)$ (en réponse à ce signal d'excitation) est effectivement fidèle à celui du système physique, et d'autre part que la dynamique du système peut être considérée négligeable pour le signal d'excitation choisi, ce qui est nécessaire dans des situations non-Wiener-Hammerstein (triple séparation des échelles de temps (Chioua 2008)). L'implémentation de la commande extrême avec une onde d'excitation ayant une période de 36h devrait donc être réalisable sur ce système.

La prochaine sous-section présente les étapes de l'implémentation de la commande extrême avec l'onde sinusoïde sur le système physique.

4.4.1 Implantation de l'algorithme de commande extrême dans l'automate programmable

Les paramètres utilisés pour cette implantation sont encore une fois tirés des simulations précédentes : $\delta = 4$, $\omega_h = 0,8\omega$ et $a = 3$. La période de 36 heures ($\omega = 0,175 \text{ rad}\cdot\text{h}^{-1}$) a été retenue, conformément au raisonnement présenté à la section précédente. Les valeurs de $k = 4\omega = 0,7$ et $\omega_h = 0,8\omega = 0,14 \text{ rad}\cdot\text{h}^{-1}$ ont donc été utilisées ici.

Les résultats expérimentaux obtenus sont illustrés aux Figure 86 à Figure 94, où les variations de la concentration cellulaire X (Figure 86, Figure 88 et Figure 93), du niveau du PBR (Figure 87), de la sortie de l'intégrateur \hat{X} (Figure 91, Figure 92 et Figure 94), et des sorties du filtre pré-démodulateur (Figure 95) sont présentées. Notons toutefois qu'aucun résultat probant n'a été obtenu pour l'application de la commande extrême dans ce mode d'opération. Cela peut être expliqué par plusieurs raisons, mais déjà, vu la vitesse anticipée de convergence obtenue en simulation (environ 60 jours à cause de la triple séparation nécessaire des échelles de temps), on pouvait se douter qu'un résultat intéressant ne puisse être obtenu. En effet, conserver la culture en santé sur une aussi longue période s'avère déjà généralement difficile (la durée d'utilisation des systèmes est d'environ 60 jours au maximum, en moyenne) en raison de l'accumulation de résidus cellulaires rendue significative à ce stade, des contaminations possibles dues aux manipulations périodiques nécessaires pour l'opération du système, et du vieillissement des cultures (probabilité croissante de dérive génétique et/ou phénotypique avec le temps). Des travaux futurs sur ce cas et les modèles non-Hammerstein-Weiner devraient être prévus afin de diminuer le temps de convergence de ces situations pour des cas pratiques.

Les résultats d'un premier essai (Figure 86 et Figure 87) montrent un bon départ de la culture, mais celle-ci a dû être arrêtée après une erreur de manipulation et de planification (un manque de milieu de culture au cours d'une nuit a entraîné un vidage presque complet du bioréacteur, car le maintien du niveau n'a pas pu s'effectuer pour compenser le débit de sortie).

Un second essai montre aussi un bon départ (Figure 88), mais la culture a cette fois subi une contamination par des ciliés. Ces spores parasites s'accrochent sur la paroi cellulaire de la microalgue et lysent (Figure 89) ou phagocytent (Figure 90) son cytoplasme. Ceci entraîne donc progressivement sa mort, faisant en sorte que l'expérience a dû être arrêtée.

Un troisième essai (Figure 91 et Figure 92) avait bien débuté, mais avec une dynamique extrêmement lente de convergence. Après un moment, le gain intégrateur a été augmenté (doublé) afin d'accélérer un peu la convergence. Cela semble cependant avoir causé un comportement indésirable, puisque le trajet d'orientation de la consigne \hat{X} s'est

inversé à partir de ce moment. Le gain a alors été ramené à sa valeur initiale dans l'espoir de rétablir la situation, mais sans succès.

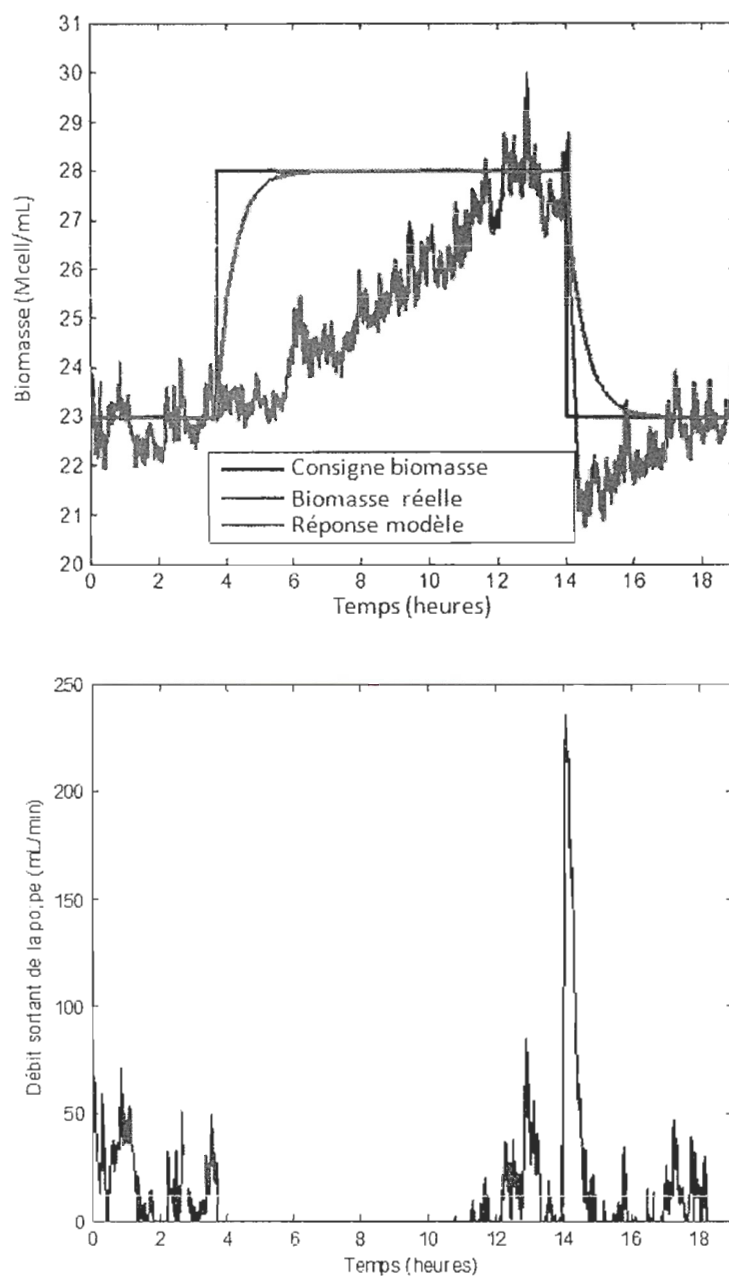


Figure 84 : Vérification du modèle $H(s)$ (dynamique de 0,5 h) avec données du système réel, échelons de $5 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$ (exemple #1)

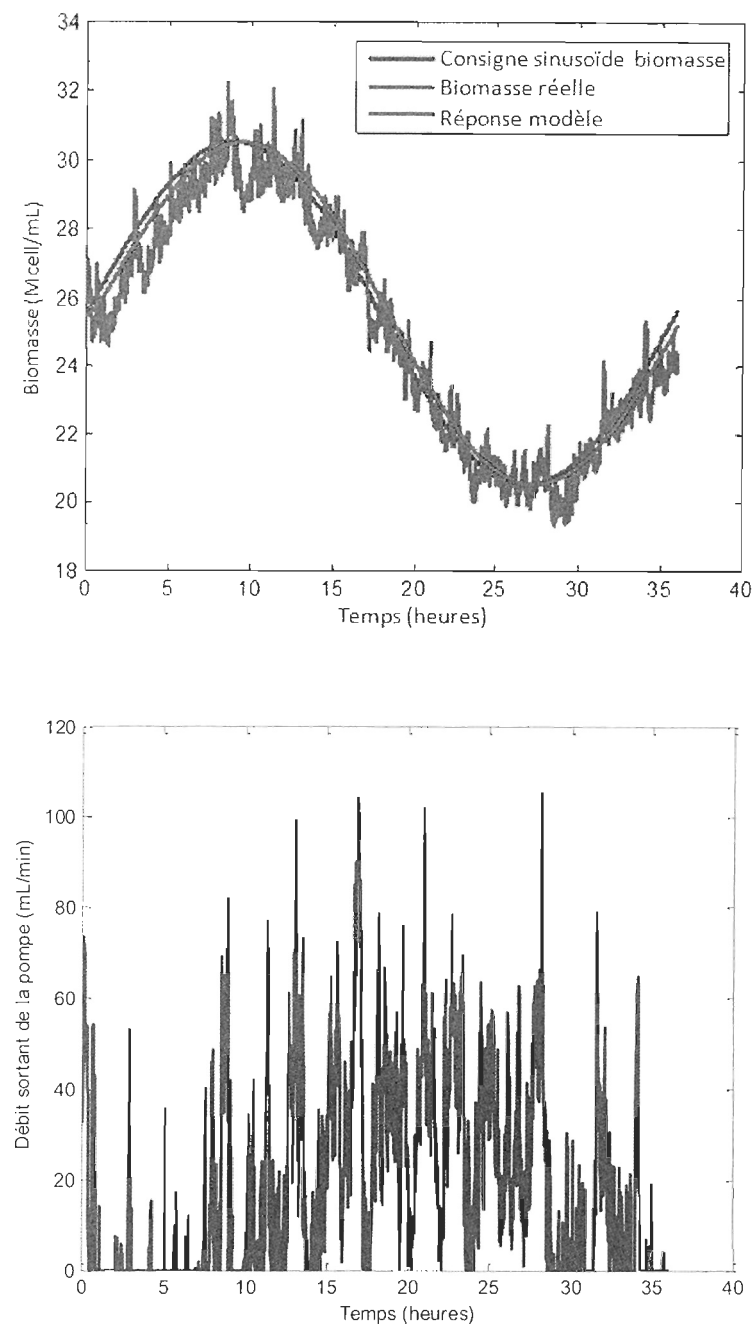


Figure 85 : Vérification du modèle $H(s)$ (dynamique 0,5 h) avec données du système réel, amplitude de $3 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$ (exemple #2)

Un quatrième essai effectué a été perturbé en raison d'une augmentation inattendue du bullage au 7^e jour. Elle a eu comme effet de « tromper » la lecture du capteur de biomasse.

En effet, l'accroissement du nombre de bulles au sein du photobioréacteur modifie la lecture du capteur (Figure 93 et Figure 94) car ce dernier est un capteur optique. Le bullage des deux photobioréacteurs partait de la même sortie d'air (même débiteur). L'entrée d'air d'un de ceux-ci a été bloquée à la fin d'un essai. L'air s'est donc dirigé vers l'autre, ce qui a causé une augmentation brusque de bullage, et a modifié radicalement la lecture du capteur optique.

Une dernière implantation a été tentée avec quelques modifications à l'algorithme : le filtre passe-haut a été changé pour un filtre passe-bande, afin de mieux filtrer les bruits aux hautes fréquences contenus dans le signal de sortie (similairement au cas de la section 4.2.3 en mode semi-continu) sans pour autant nuire aux performances de la commande extrémale. Sa fréquence centrale a donc encore une fois été réglée à ω et sa bande passante à 0.2ω . En simulation, aucun bruit de mesure n'était présent, donc le réglage de la boucle de commande extrémale alors effectué ne l'a pas pris en considération. Les résultats obtenus sur le système réel sont illustrés à la Figure 95, où l'on voit bien l'impact positif de cette manœuvre sur le signal de sortie du filtre : les oscillations à la fréquence fondamentale du signal d'excitation sont alors clairement visibles, et comportent très peu de bruit. Toutefois, l'essai a dû être arrêté en raison d'une contamination aux ciliés et les autres résultats ne sont pas montrés pour cette même raison.

Pour terminer, d'autres expérimentations n'ont pu être réalisées, car des bris importants sont survenus sur les cylindres disponibles. La fabrication de nouveaux cylindres n'a pu être envisagée à court terme devant les échéances prévues pour ce projet de maîtrise, et l'absence de ressources financières additionnelles pour pouvoir procéder. Ces problèmes mécaniques (fissures sur les cylindres (Figure 96)) se sont donc ajoutés aux problèmes concernant la détérioration de la santé des microalgues (contaminations ou opération dans des conditions néfastes pour la santé des cultures) et aux difficultés liées à la convergence de l'algorithme. Les cylindres sont en acrylique, un matériel choisi par NutrOcéan en raison de son bon rapport qualité-prix et du fait qu'il s'agit d'un matériau de grade alimentaire (ne laisse aucun résidu de plastique dans la culture tels les BPA (bisphénol A), etc.). Toutefois, ce matériel est relativement fragile et peut fissurer, généralement en fatigue (après de multiples manipulations sur le long terme). Les fissures survenaient donc souvent lors du

rassemblement des constituantes du photobioréacteur, après un nettoyage complet. Une simple fausse manœuvre, comme serrer un boulon ou un écrou légèrement trop fort suffisait à briser le cylindre. Celui-ci était parfois réparable, mais cela requiert passablement de temps. De plus, en raison de leurs caractéristiques de fatigue (affaiblissement du matériau avec le temps), les cylindres ne sont pas toujours réparables.

Malgré ces difficultés, des résultats intéressants ont quand même été obtenus aux niveaux scientifique et industriel, et l'expérience pratique réalisée a été fort enrichissante pour une formation de PHQ : les habiletés ainsi acquises pourraient être grandement mises à profit dans le cadre d'une carrière professionnelle dans le domaine des bioprocédés et du contrôle de la production de ceux-ci.

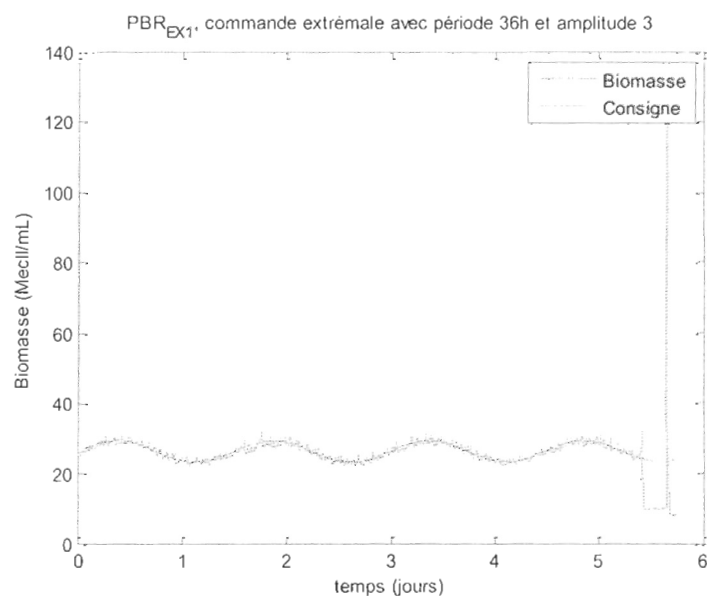


Figure 86 : Problème de lecture de la concentration cellulaire causé par le manque d'eau de mer (F/2)

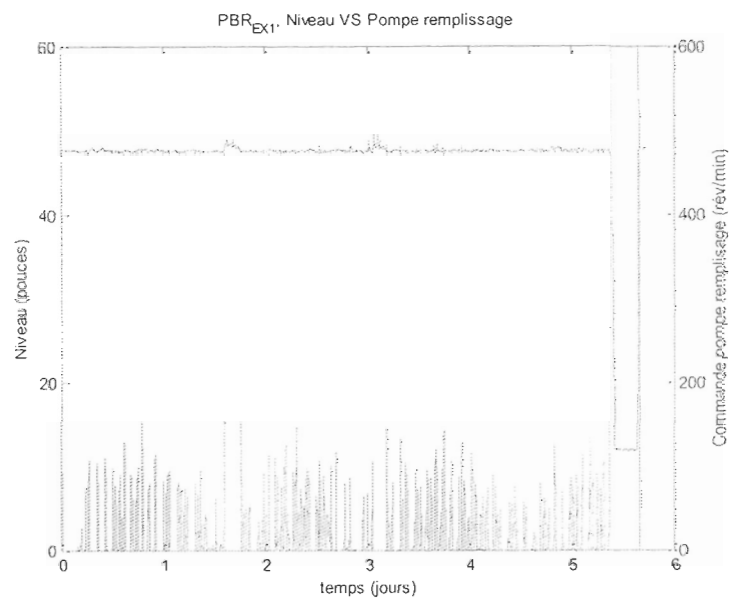


Figure 87 : Baisse subite du niveau dans le photobioréacteur causé par un manque d'eau de mer (F/2)

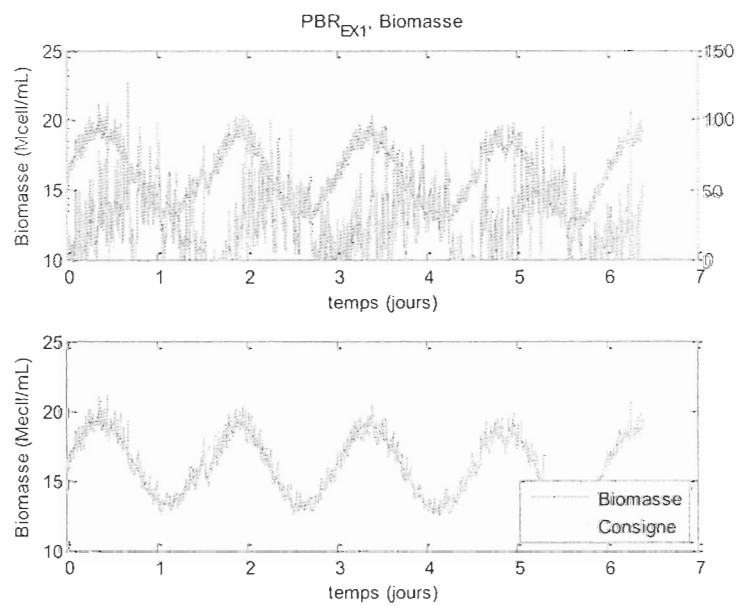


Figure 88 : Expérience d'une durée de 6 jours qui a pris fin à cause d'une contamination par des ciliés

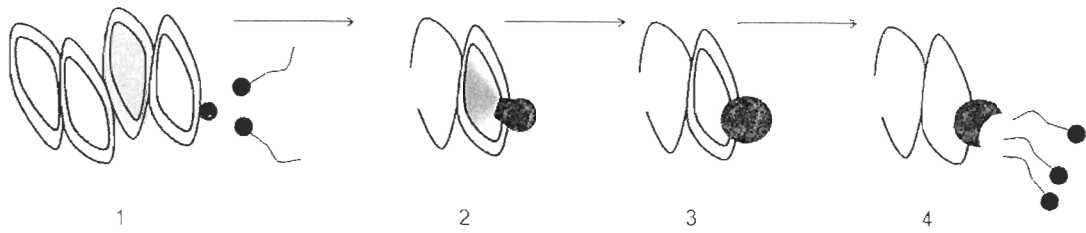


Figure 89 : Cycle de vie d'une spore parasite *Chytridium* (cilié) dans *Scenedesmus* (microalgue) : (1) zoospore accroché sur la paroi cellulaire, (2) croissance de *Chytridium* à partir d'haustorium, lyse le cytoplasme de l'algue (3) *Chytridium* mature, (4) libération de zoospores

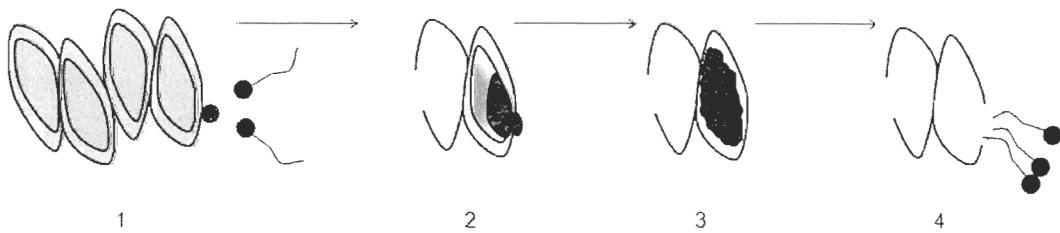


Figure 90 : Cycle de vie d'une spore parasite *Aphelidium* (cilié) dans *Scenedesmus* (microalgue) : (1) zoospore accrochée sur la paroi cellulaire, (2) croissance de *Aphelidium*, phagocyte le cytoplasme de l'algue (3) multiplication par mitose, (4) libération de zoospores

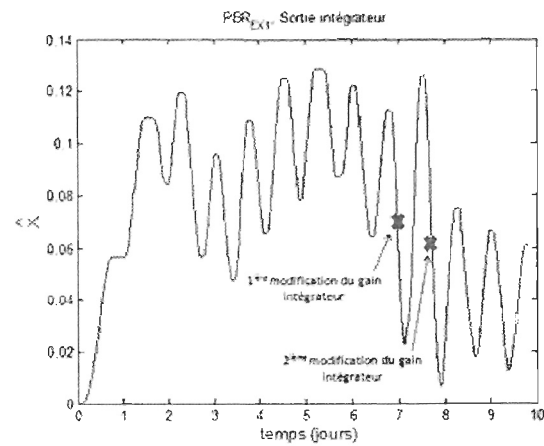


Figure 91 : Changement brusque dans le parcours de la sortie de l'intégrateur

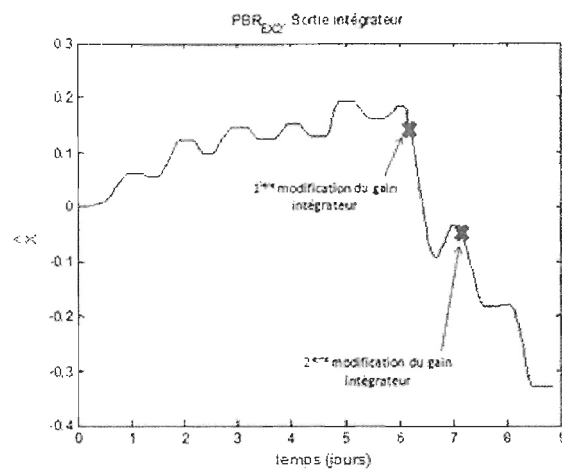


Figure 92 : Changement brusque dans le parcours de la sortie de l'intégrateur

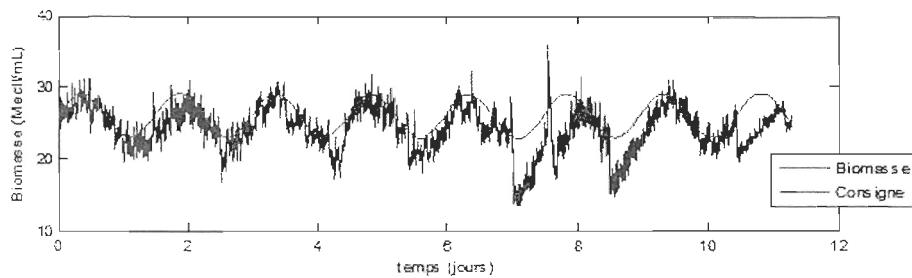


Figure 93 : Difficulté de réguler la concentration cellulaire à sa consigne en raison d'une augmentation soudaine du bullage d'air

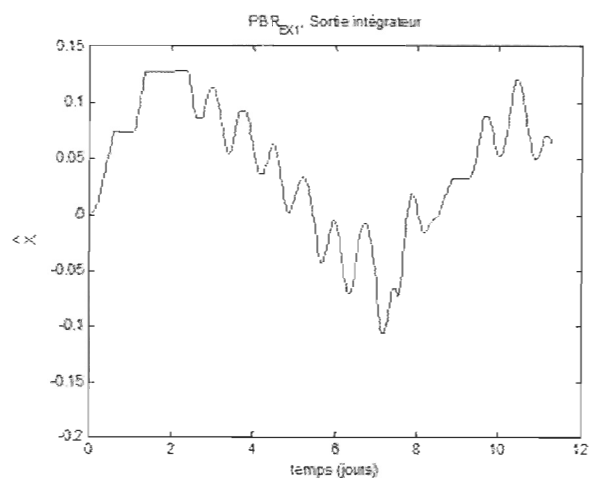


Figure 94 : Changement brusque dans le parcours de la sortie de l'intégrateur causé par l'augmentation soudaine du bullage d'air

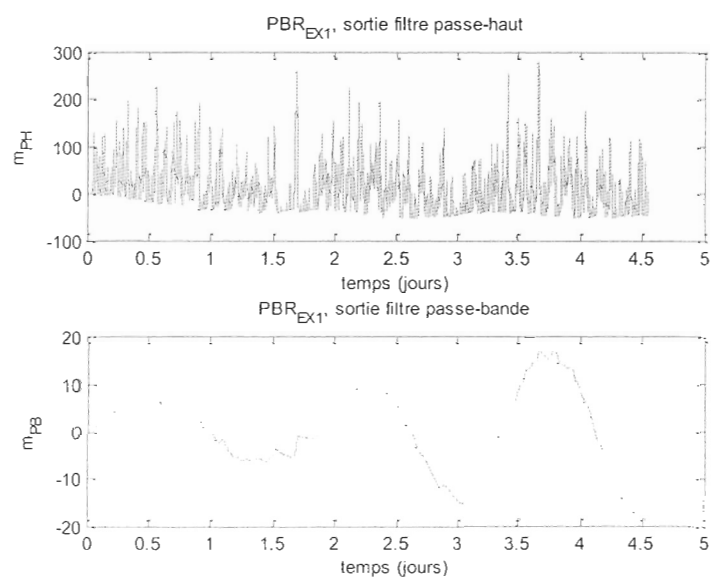


Figure 95 : Comparaison des signaux de sortie du filtre passe-bas et du filtre passe-bande (domaine temporel)

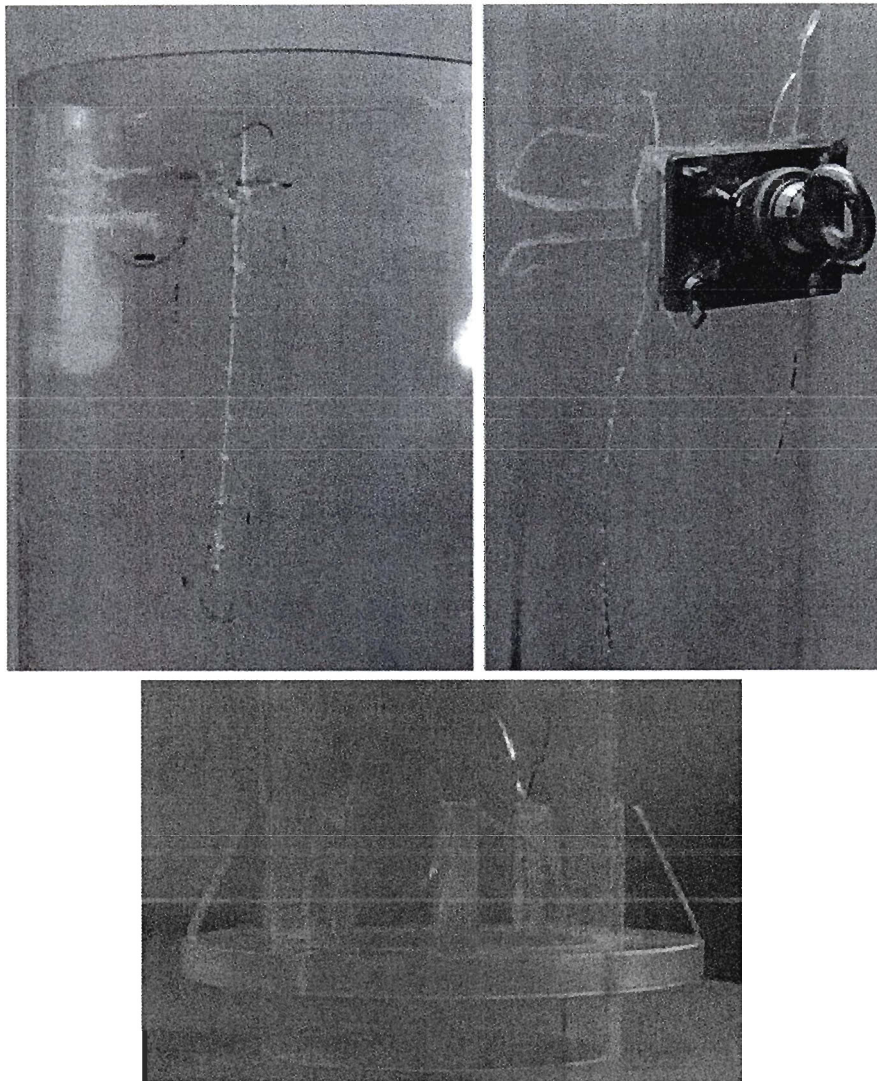


Figure 96 : Fissures sur un cylindre

4.5 CONCLUSION

Ce chapitre a présenté les principaux résultats de l'application de la commande extrême (par la méthode des perturbations) obtenus en simulation et en pratique pour (1) maximiser le taux de croissance de l'espèce de microalgue *Nannochloropsis oculata* en modulant le pH de la culture et (2) améliorer la productivité en mode de récolte continu de la même culture en modulant la concentration cellulaire et le taux de dilution, directement liés à la productivité du système ($D \cdot X$).

L'implémentation de cette commande à l'optimisation du taux de croissance en fonction du pH a été réalisée avec succès tant en simulation que sur le système physique. La méthodologie développée dans Deschênes et St-Onge (2012) a été appliquée avec succès, et a mené à la publication de Deschênes et al. (2012) dans la prestigieuse conférence de l'ADCHEM.

L'implémentation de la commande extrémale pour optimiser la productivité des systèmes en mode continu a cependant été seulement partiellement réussie. La programmation de la commande extrémale dans le simulateur a été un succès, mais la dynamique obtenue (d'une soixantaine de jours avant convergence), n'était pas acceptable pour une implantation en pratique. L'implémentation sur le système physique (photobioréacteur) a effectivement confirmé cette appréhension.

Néanmoins, tous les résultats obtenus ont permis d'avancer de façon intéressante en vue de l'implantation industrielle de ces techniques de contrôle et d'optimisation. Des travaux futurs sur ce cas et les modèles non-Hammerstein-Weiner sont prévus suite aux résultats de ce mémoire afin de diminuer le temps de convergence de ces situations pour le cas pratique. Le prochain et dernier chapitre de ce mémoire en relate de façon plus globale dans le cadre d'une conclusion générale au présent mémoire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les réalisations sur l'optimisation de la production de microalgues en photobioréacteur, par la commande extrémale, ont été présentées dans ce présent mémoire. Les trois premiers objectifs principaux étaient : 1) de bâtir un simulateur pour simuler le comportement d'une culture de microalgues (*Nannochloropsis oculata*) en récolte semi-continue ou en récolte continue, 2) d'implémenter la commande extrémale par la méthode des perturbations dans le simulateur et dans l'automate du système physique, afin d'optimiser le taux de croissance μ (en mode de récolte semi-continue) par modulation du pH et 3) d'implémenter la commande extrémale pour optimiser la productivité des systèmes en mode continu, en modulant le débit de récolte.

Afin d'atteindre ces objectifs et assurer le bon déroulement des expériences, des aspects techniques associés à la culture de microalgues ainsi qu'à l'instrumentation disponible pour automatiser le procédé ont dû être maîtrisés, et à cet effet, ont été présentés au chapitre 3. Celui-ci a présenté un résumé des Étapes préparatoires à la production en photobioréacteur, le Système physique en lui-même, Appareils du laboratoire sec, les manipulations et l'entretien, l'échantillonnage, Identification des boucles de base et réglage des contrôleurs PI à la base des structures de commande plus complexes présentées dans ce mémoire.

En plus des résultats expérimentaux, des résultats numériques obtenus en simulation étaient prévus en complément, pour aider au réglage des stratégies de commande avancées. Le chapitre 4 présentait donc les étapes suivies pour la conception d'un simulateur d'une culture de *Nannochloropsis oculata*, en passant par les modèles dynamiques des bioprocédés de façon plus générale, et des spécificités des microalgues autotrophes. Les lois physiques gouvernant les équilibres et les dynamiques de croissance, de consommation et de production de certaines molécules ont été utilisées pour décrire le comportement de l'espèce de

microalgues *Nannochloropsis oculata* (en mode de récolte semi-continu et continu) en photobioréacteur, et ont été implantées sous Simulink© (MATLAB©). L'objectif du simulateur était d'avoir un comportement suffisamment similaire au procédé réel pour pouvoir tester et éprouver l'efficacité et les performances de nouveaux algorithmes de contrôle et d'optimisation qu'il était visé y appliquer en pratique. Globalement, le comportement de ce dernier représentait bien le système, en particulier aux concentrations cellulaires en phases initiale et exponentielle de croissance. En phase plateau, le comportement était un peu moins fidèle à la réalité, mais la région d'utilisation du simulateur se limitait essentiellement à la phase exponentielle, où le comportement était bien suffisamment représentatif de la réalité.

Le chapitre 5 a présenté les principaux résultats obtenus sur l'optimisation du système à l'aide du simulateur et leur transposition sur les systèmes expérimentaux. Les objectifs étaient de réussir à appliquer la commande extrémale par la méthode des perturbations pour (1) maximiser le taux de croissance de l'espèce de microalgues *Nannochloropsis oculata* en modulant le pH de la culture en mode semi-continu et (2) optimiser la production de biomasse en mode de récolte continue du même système en modulant le taux de dilution D indirectement via une boucle de contrôle sur la concentration cellulaire X ($\text{Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$). Le produit entre ces deux quantités reflète directement la productivité du système.

Pour l'optimisation du pH, la convergence a été assurée à l'intérieur d'un à deux jours sur le système réel, tout comme le préoyaient les résultats des simulations. De plus, il était attendu que le pH optimal se situait près de 8, ce qui a également été observé en pratique. Ce même résultat ayant également déjà été publié dans la littérature (Spolaore et al. 2006) en utilisant une autre approche, nous confirme que notre étude est valable.

Le troisièmement objectif principal (implémentation de la commande extrémale pour optimiser la productivité des systèmes en mode continu, en modulant le débit de récolte) a été partiellement atteint. L'implémentation de la commande extrémale dans le simulateur a été un succès, mais avec une dynamique anticipée d'une soixantaine de jours, ce qui ne serait cependant pas acceptable pour une implantation industrielle. Effectivement, les méthodes basées sur une mesure de la fonction objective nécessitent un temps de convergence

extrêmement long à cause de la triple séparation des échelles de temps (Chioua 2008). Des travaux futurs seront nécessaires afin de trouver une façon de réduire le temps de convergence (étude plus détaillée du cas non-Wiener-Hammerstein et de ses limitations).

Du côté du système physique (photobioréacteur), la commande extrémale n'a pas non plus fourni des résultats intéressants, pour différentes raisons qui ont été exposées en détail au chapitre 5. Notamment, les deux problèmes plus importants qui ont nui au déroulement des expériences sont des problèmes mécaniques (fissures sur les cylindres) et la détérioration de la santé des microalgues (contaminations ou opération dans des conditions néfastes pour la santé des cultures). Malgré ces difficultés, des résultats intéressants ont été obtenus au niveau scientifique. Les habiletés ainsi acquises pourraient être grandement mises à profit dans le cadre d'une carrière professionnelle dans le domaine des bioprocédés.

De façon globale, les résultats obtenus dans ce projet ont permis d'avancer de façon pertinente les connaissances en vue de l'implantation industrielle de ces techniques de contrôle et d'optimisation, un aspect qui intéresse particulièrement les praticiens dans le domaine de l'opération des procédés industriels. Pour la suite des choses (travaux de recherche futurs), des modifications aux algorithmes pour les adapter aux spécificités des systèmes en mode de récolte continu sont à prévoir, pour une implémentation réussie en pratique. De plus, il serait intéressant d'optimiser d'autres paramètres influents comme l'intensité lumineuse par exemple.

Devant les résultats présentés ainsi que ceux à venir, des industries comme NutrOcéan pourront être en mesure de profiter des avantages qu'offre l'automatisation des processus industriels, ouvrant la porte à des possibilités intéressantes :

- accroissement significatif de la capacité de production,
- meilleure qualité du produit, car un meilleur contrôle de la production implique une réduction de la variabilité dans les caractéristiques des produits.

Ainsi, le développement de nouveaux produits à plus haute valeur ajoutée et l'accès à des marchés spécialisés seraient facilités pour ce type d'entreprise.

ANNEXE I
***PROCEDURE POUR LA CREATION D'UNE TOURIE DE 4L DE
NANNOCHLOROPSIS OCULATA, A PARTIR D'UNE SOUCHE DE
MICROALGUES***

Les étapes de cette procédure sont performés en conditions stériles (sous une hotte à flux laminaire).

Décongélation de la souche

1. Préparer un bain-marie à 37°C.
2. Sortir les tubes à décongeler (cryovials) de l'azote liquide.
3. Placer immédiatement sur un support flottant dans le bain-marie à 37°C pendant un maximum de 3 min.
4. Une fois la glace disparue, transférer le contenu des cryovials dans deux microtubes de 1,5 mL autoclavés.
5. Centrifuger pendant 5 min à 1500G. S'assurer que le joint du microtube est vers le haut afin d'avoir un point de repère sur l'endroit où les algues se sont possiblement accumulées.
6. Jeter le surnageant en prenant bien soin de laisser les algues qui pourraient s'être accumulées sur la paroi du côté du joint (elles devraient être visible et le culot légèrement vert).
7. Suspendre à nouveau les cellules dans 1 mL de milieu de culture.
8. Transférer dans des fioles de 50 mL.
9. Ajouter 9 mL de milieu de culture.
10. Laisser 24 h à la température de la pièce à éclairage modéré (ambient) (ne pas mettre en chambre de culture pour l'instant).
11. Placer la fiole dans une chambre de culture et, pendant 7 jours, agiter quotidiennement (laisser les bouchons dévissés ou le papier d'aluminium entrouvert).

Croissance des algues

À commencer environ une semaine après la décongélation ou lorsque la culture a une teinte vert pomme (concentration d'environ $30 \text{ Mcells} \cdot \text{mL}^{-1}$).

1. Faire une dilution 1/10 avec la quantité d'algues disponible dans des fioles autoclavées de 250 mL (Figure 97). Si on veut obtenir deux touries, répartir les algues dans deux fioles.
2. Fermer la fiole avec un bouchon en caoutchouc avec entrée pour bullage d'air (il n'y aura possiblement pas assez de liquide pour que le tube trempe, mais le bullage permettra au moins une bonne aération en surface).

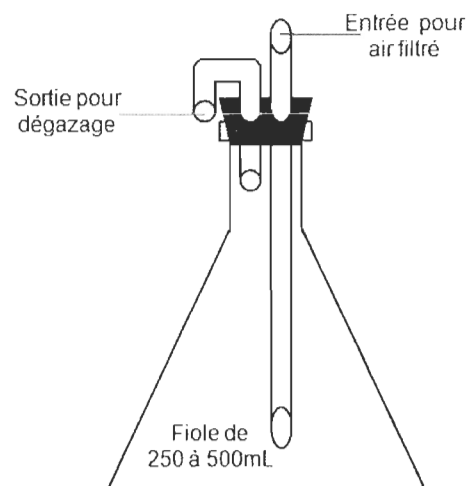


Figure 97 : Fiole de 250 à 500mL avec bouchon de caoutchouc

3. Placer la fiole dans une chambre de culture en prenant soin de brancher le bullage d'air sur la tige de verre insérée dans le bouchon en caoutchouc.

Attendre environ 2 jours.

4. Compléter à 200 mL avec du milieu de culture.

Attendre environ 5 jours (concentration à $30 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$).

5. Transférer la culture dans une tourie de 4 L (Figure 98) avec un bouchon en caoutchouc avec entrée pour bullage d'air.

Attendre environ 3 jours.

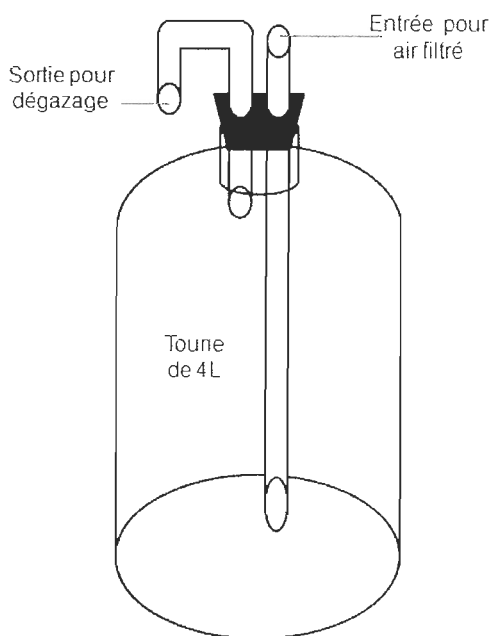


Figure 98 : Tourie de 4L avec bouchon de caoutchouc

6. Lorsque la concentration de la tourie est assez élevée (environ $30 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$), elle est prête à ensemer un photobioréacteur (il est important de ne pas laisser la tourie trop longtemps dans la chambre de culture, car le pH augmente et la culture jaunie lorsqu'elle atteint sa phase plateau). Après l'ensemencement, la concentration de la culture dans le photobioréacteur doit être à environ $2 \text{ Mcell} \cdot \text{mL}^{-1}$.

De la décongélation du cryovial à l'ensemencement d'un photobioréacteur, cette procédure (Figure 99) nécessite un peu plus de deux semaines.

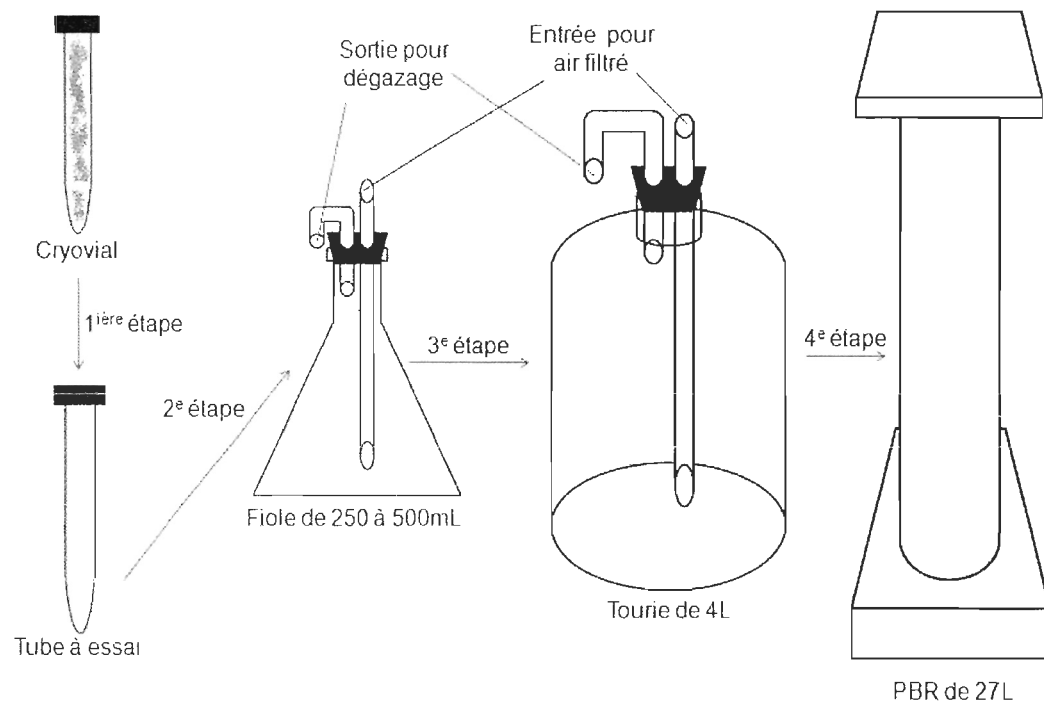


Figure 99: Procédure

ANNEXE II
PROCÉDURE A SUIVRE POUR LA PRÉPARATION DE MILIEU DE CULTURE
(F/2)

Microfiltration (Figure 100)

1. Vérifier que toutes les vannes sont bien fermées.
2. Ouvrir la vanne d'alimentation en eau de mer.
3. Raccorder un tuyau à la sortie de la vanne 2 et placer l'autre extrémité dans un drain.

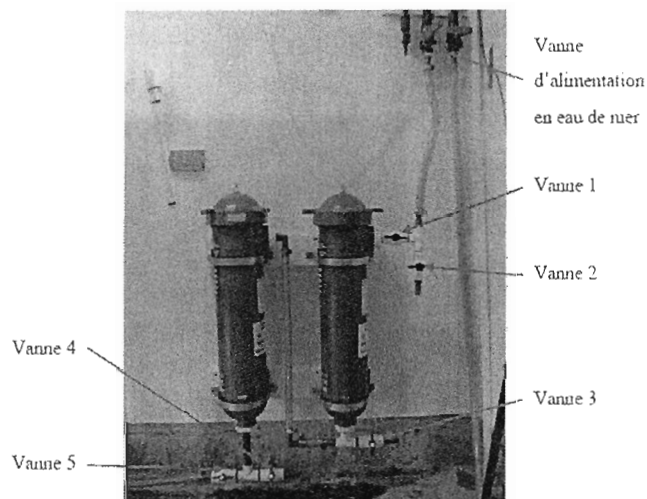


Figure 100 : Système microfiltration

4. Ouvrir la vanne 2 et laisser l'eau s'écouler environ 1 min (cela permettra d'éliminer les accumulations qui pourraient s'être formées dans les tuyaux depuis la dernière utilisation).
5. Refermer la vanne 2.
6. Raccorder un tuyau à la sortie de la vanne 4 et placer l'autre extrémité dans un drain.
7. Ouvrir graduellement la vanne 1.

8. Ouvrir ensuite graduellement la vanne 4 pour évacuer l'eau qui est demeurée dans les filtres depuis la dernière.
9. Fermer la vanne 4.
10. Ouvrir graduellement la vanne 5 pour remplir le bassin no 1 (prévoir 180 L environ pour l'utilisation des deux photobioréacteurs de 25 litres).
11. Fermer la vanne 5 après le remplissage.
12. Fermer la vanne 1.
13. Fermer la vanne d'alimentation en eau de mer.

L'eau doit être stockée pendant au moins 24 heures avant d'être utilisable pour subir le reste des manipulations et être utilisable pour l'alimentation des photobioréacteurs.

Ultrafiltration (Figure 101)

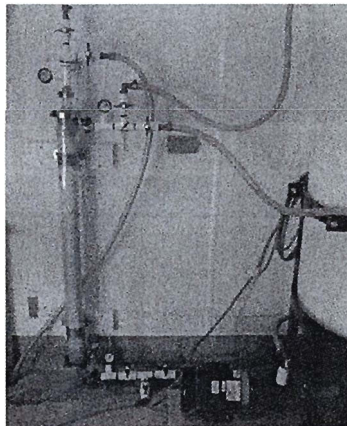


Figure 101 : Système ultrafiltration

1. Ajouter 0,13mL de solution F/2 A et solution F/2 B pour chaque 1L d'eau de mer directement dans le bassin no 1.
2. Vérifier que toutes les vannes de la cartouche sont fermées et que la vanne sous le bassin no 1 est ouverte (Figure 102).

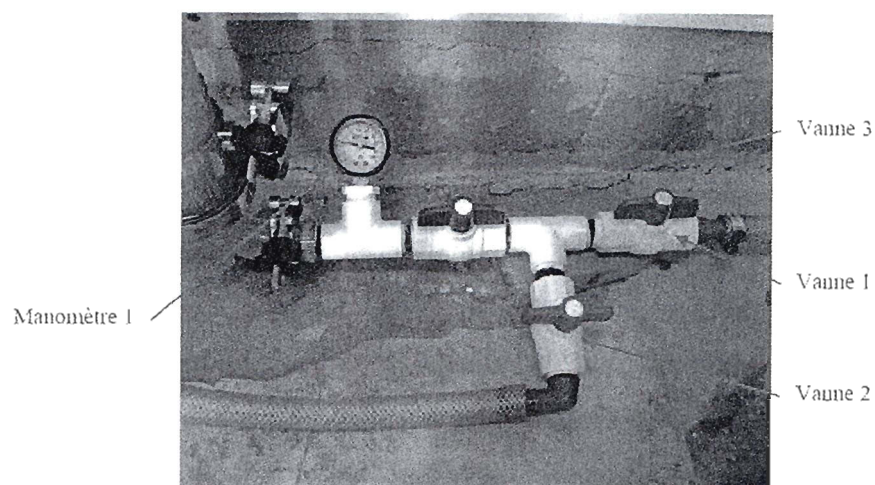


Figure 102 : Vannes à la sortie du bassin #1

3. Ouvrir la vanne 1.
4. Ouvrir totalement les vannes 4 et 6 (Figure 103).
5. Brancher la pompe centrifuge.
6. Ouvrir légèrement la vanne 3 et laisser la cartouche se remplir lentement (le niveau augmente graduellement à l'extérieur des fibres de la cartouche et attendre que le « perméat » commence à s'écouler dans le bassin no 1).

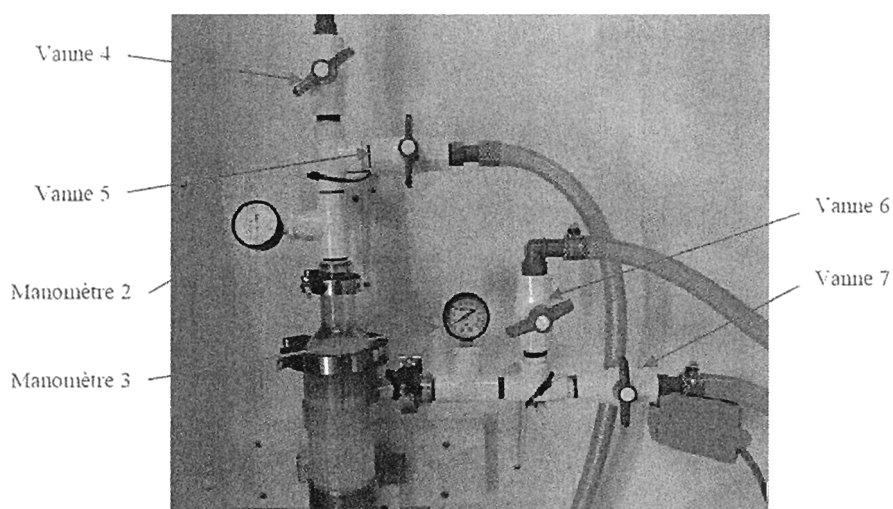


Figure 103 : Vannes à la sortie du filtre PEPPA

7. Ouvrir graduellement la vanne 3 à pleine capacité.
8. Fermer progressivement la vanne 4 pour que le manomètre 2 indique une pression d'environ 15 PSI.
9. Fermer progressivement la vanne 6.
10. Laisser tourner le système en boucle fermée pendant environ 2 min (le temps que le milieu se mélange).
11. Ouvrir ensuite petit à petit la vanne 7 jusqu'à ce qu'elle soit totalement ouverte.
12. Fermer peu à peu la vanne 6 jusqu'à la fermeture complète.
13. Fermer progressivement la vanne 7 pour que le manomètre 2 indique une pression maximale d'environ 5 PSI.
14. Laisser fonctionner le système pour obtenir environ 150 litres (pour l'utilisation deux PBR de 25 L) de milieu de culture dans le bassin no 2.
15. Refermer graduellement la vanne 3 afin de fermer le système.
16. Déconnecter la pompe centrifuge.
17. Ouvrir la vanne 2 et attendre que la vidange du milieu restant dans le bassin no 1 soit terminée.
18. Fermer la vanne 1 et ouvrir la vanne 3 (laisser la cartouche d'ultrafiltration se vider lentement de son contenu).
19. Fermer les vannes 2, 3 et 7.

ANNEXE III

PROCÉDURE A SUIVRE POUR LE NETTOYAGE DE LA POMPE

1. Rincer la pompe à l'eau chaude et à l'eau froide successivement (durée : 5 min) et vider les tuyaux une fois les rinçages terminés.
2. Nettoyer l'intérieure et l'extérieure des bouts des tuyaux avec une brosse à éprouvettes imbibées d'eau de javel à 220ppm.
3. Rincer la pompe à l'eau chaude et à l'eau froide (durée : 5 min).
4. Remplir la pompe d'eau froide, ajouter 30mL de javel pure et procéder à un rinçage en boucle fermée (durée : 10 min) (Figure 104).

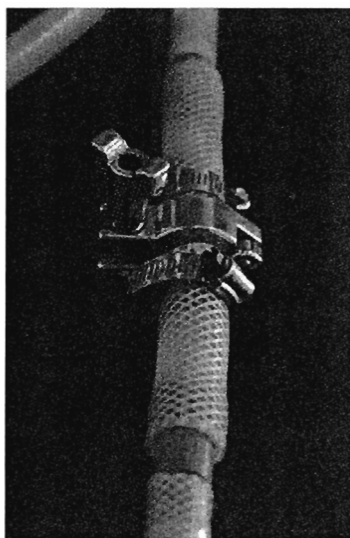


Figure 104 : Boucle fermée

5. Une fois le rinçage en boucle fermée terminé, la pompe est entreposée à l'endroit qui lui est réservé.

ANNEXE IV

PROCEDURE A SUIVRE POUR LE NETTOYAGE D'UN PHOTOBIOREACTEUR AVANT SON ENSEMENCEMENT

- Mettre des gants, des lunettes de protection et une blouse.
- Démonter (le lavage est différent suivant les différentes parties du PBR).
- Pour la base et le couvercle :
 - Rincer à l'eau.
 - Laver avec du savon et javel (à l'aide d'un chiffon et d'une brosse).
 - Rincer à l'eau.
 - Laver avec HCL 10% (laisser sécher pendant maximum 1h).
 - Rincer à l'eau.
- Pour le cylindre :
 - Laver à l'eau chaude savonneuse à l'aide de la brosse ronde.
 - Rincer à l'eau.
 - Laver avec HCl 10% (attendre maximum 1h).
 - Rincer à l'eau.
- Pour les échantillonneurs :
 - Rincer à l'eau.
 - Remplir la tubulure avec du HCl 10%.
 - Rincer à l'eau.
- Pour les joints, raccords de bullage et bouchon arrière :
 - Rincer à l'eau.
 - Laver au savon.
 - Rincer à l'eau.
 - Laver avec HCl 10% (laisser sécher pendant 15 min).
 - Rincer à l'eau.

- Pour les valves « stainless » :

- Rincer à l'eau.
- Laver au savon.
- Rincer à l'eau.

Pour le remontage du PBR, mettre à tremper dans un seau d'eau de javel à 200ppm : valve, bouchon, joint, raccords et joints téflon.

Avant de pouvoir ensemer, il faut :

- Remplir le PBR d'eau et ajouter de l'eau de javel (100ml).
- Aspirer l'eau dans bullage/échantillonneur (laisser 1h minimum jusqu'à la nuit complète).

Après la nuit complète :

- Faire buller.
- Vider le PBR.
- Rincer le PBR à l'eau de mer et sels nutritifs (environ 5 L).
- Vider le PBR.

Ensemencement :

- Introduire l'eau de mer.
- Introduire la culture.

ANNEXE V
PRODECURE A SUIVRE POUR L'ENTRETIEN DU SYSTÈME DE
MICROFILTRATION

1. Vérifier que toutes les vannes sont bien fermées.
 2. Raccorder un tuyau à la sortie de la vanne 4 et placer l'autre extrémité dans un drain.
 3. Ouvrir graduellement la vanne 4.
 4. Si l'eau ne s'écoule pas, ouvrir le petit évent installé sur le dessus du couvercle.
 5. Si ce n'est pas déjà fait, raccorder un tuyau à la sortie de la vanne 3 et placer l'autre extrémité dans un drain.
 6. Ouvrir graduellement la vanne 3.
 7. Si l'eau ne s'écoule pas, ouvrir le petit évent installé sur le dessus du couvercle.
 8. Puisque les 2 boîtiers sont maintenant drainés, ouvrir les deux couvercles et retirer les filtres pour le nettoyage.
 9. Replacer un filtre neuf dans chacun des boîtiers.
 10. Remettre les couvercles sur chacun des boîtiers.
 11. S'assurer que toutes les vannes sont fermées et que les événements sont ouverts.
 12. Ouvrir la vanne d'alimentation en eau de mer.
 13. Ouvrir graduellement la vanne 1.
 14. Ouvrir graduellement la vanne 4.
 15. Laisser l'eau s'écouler jusqu'au moment où elle commence à s'écouler par les événements puis fermer ces derniers.
 16. Refermer la vanne 4.
 17. Fermer la vanne 1.
 18. Fermer la vanne d'alimentation en eau de mer.
 19. Nettoyer les filtres à l'aide d'une machine à pression.
- Placer les filtres à tremper dans l'eau de javel jusqu'à leur prochaine utilisation.

ANNEXE VI
PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ENTRETIEN DU SYSTÈME
D'ULTRAFILTRATION

1. Verser environ 15 L d'eau chaude ainsi que 15 L d'eau déminéralisée dans le bassin no 1.
2. S'assurer que toutes les vannes sont bien fermées.
3. Ouvrir les vannes 4 et 6.
4. Répéter les étapes 5 à 9 de la partie « Ultrafiltration ».
5. Laisser tourner le système en boucle fermée pendant environ 10 min le temps de rincer la cartouche.
6. Répéter les étapes 15 à 19 de la partie « Ultrafiltration ».
7. Verser à nouveau environ 15 L d'eau chaude ainsi que 15 L d'eau déminéralisée dans le bassin no 1.
8. Ajouter 62 millilitres de NaOH dans le bassin no 1 afin d'obtenir un pH d'environ 10-10.5 (il s'agit d'une méthode empirique).
9. Ajouter 100 millilitres de javel dans le bassin no 1 pour obtenir une concentration de 200 ppm.
10. S'assurer que toutes les vannes sont bien fermées.
11. Ouvrir les vannes 4 et 6 de la partie « Ultrafiltration ».
12. Répéter les étapes 5 à 9 de la partie « Ultrafiltration ».
13. Laisser tourner le système en boucle fermée pendant environ 10 min.
14. Répéter les étapes 15 à 19 de la partie « Ultrafiltration ».
15. Verser environ 15 litres d'eau chaude ainsi que 15 L d'eau déminéralisée dans le bassin no 1.
16. S'assurer que toutes les vannes sont bien fermées.
17. Ouvrir les vannes 4 et 6 de la partie « Ultrafiltration ».

18. Répéter les étapes 5 à 9 de la partie « Ultrafiltration ».
19. Laisser tourner le système en boucle fermée pendant environ 10 min le temps de rincer la cartouche.
20. Répéter les étapes 15 à 18 de la partie « Ultrafiltration ».
21. Fermer toutes les vannes.

ANNEXE VII
PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ENTRETIEN DU COMPTEUR DE
PARTICULES

1. Déconnecter le tube beige et ne mettre aucun vial dans la machine.
2. Appuyer sur la touche « Function » de la machine et sélectionner « Drain System ».
3. Appuyer sur « Start ».
4. Pendant ce temps, mettre un bécher de 100mL d'eau déionisée 1 min au micro ondes.
Ajouter 20 % d'eau de javel.
5. Une fois que le « Drain System » est terminé, mettre le tube beige dans le bécher d'eau chaude et javel préparé à l'étape précédente.
6. Mettre un vial rempli d'eau de javel sur la plateforme.
7. Appuyer sur la touche « Function » et sélectionner « Fill System ».
8. Appuyer sur « Start ».
9. Une fois le cycle de « Fill System » terminé, enlever le tube beige du bécher et le vial de la plateforme.
10. Faire un « Drain System » à nouveau (étape 1 à 3).
11. Une fois le cycle terminé, remplir le bécher et le vial d'eau distillée puis mettre le tube beige dans le bécher et le vial sur la plateforme. Effectuer un « Fill System ».
12. Débrancher tous les tuyaux puis faites un « Drain System » une fois le cycle terminé.
13. Connecter le tube beige, remplir le vial d'Isoton II et faire un cycle de « Fill System » une fois le cycle terminé.
14. Pour valider le nettoyage, faite quelque lecture avec de l'Isoton II seul (les concentrations devraient être très basses).

ANNEXE VIII

PROCEDURE A SUIVRE POUR LA RECOLTE ET LE REMPLISSAGE D'UN PHOTOBIOREACTEUR EN RECOLTE SEMI-CONTINUE

1. Déterminer combien de litres il faut vidanger afin de diluer la culture.
2. Mettre des gants.
3. Rincer à l'eau chaude et à l'eau froide successivement le tuyau identifié « Récolte » pouvant contenir 0,5 L et laisser-le dans l'évier.
4. Nettoyer les bouts du tuyau avec la brosse ayant trempé dans l'eau de javel à 220ppm.
5. Enlever le capuchon bleu de la vanne du photobioréacteur et déposer le dans le seau de javel.
6. Nettoyer l'embouchure de la vanne à l'aide d'un linge ayant trempé dans la javel à 220ppm.
7. Fixer le petit joint d'étanchéité blanc sur l'embouchure de la vanne.
8. Sortir du seau le raccord permettant la connexion à la vanne et effectuer le raccordement à l'aide de la pince de type « Tri-Clamp ».
9. Récupérer le tube de récolte dans l'évier et le raccorder à l'embout du tube précédent.
10. Placer l'autre extrémité du tube de récolte dans le contenant rectangulaire identifié « Manuel ».
11. Vérifier la quantité de culture à récolter.
12. Ouvrir la vanne afin d'amorcer la récolte (Figure 105).

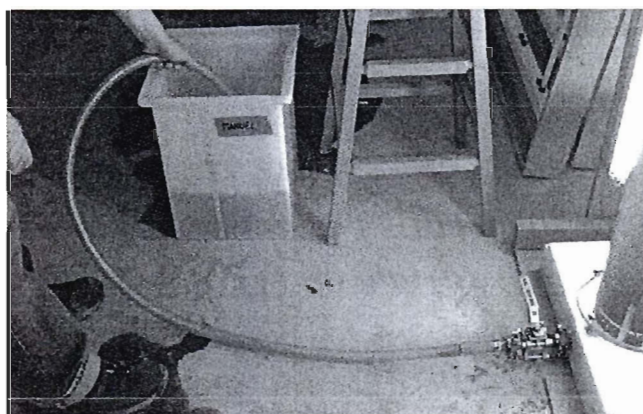
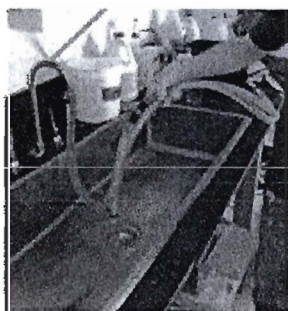


Figure 105 : Récolte

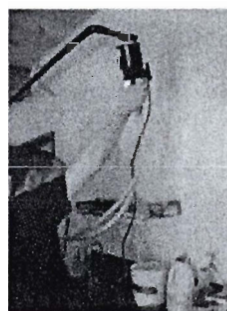
13. Fermer la vanne lorsque le volume à récolter est atteint.
14. Déconnecter doucement la pince de type « Tri-Clamp » et verser le contenu du tuyau dans le contenant identifié « Manuel ».
15. Remettre l'embout permettant le raccord à la vanne dans le seau d'eau de javel.
16. Mettre le récipient de récolte de côté pour l'instant.

La suite des étapes concerne l'ajout de milieu de culture neuf.

17. Rincer à l'eau chaude et à l'eau froide successivement les tuyaux de la pompe centrifuge (Figure 106 a)).
18. Vider l'eau qui demeure dans la pompe après le rinçage (Figure 106 b)).



a)



b)

Figure 106 : Rinçage de la pompe

19. Nettoyer les bouts des tuyaux de la pompe avec la brosse ayant trempé dans l'eau de javel à 220ppm.
20. Réinstaller le raccord permettant la connexion à la vanne du photobioréacteur à l'extrémité du tube situé sur le dessus de la pompe.
21. Enfoncer le tuyau situé sur le devant de la pompe sur le raccord prévu à cet effet sous le réservoir identifié « Réservoir #2 » (Figure 107) (ce réservoir contient de l'eau de mer ayant subi le processus d'ultrafiltration et a été enrichie).



Figure 107 : Remplissage

22. Raccorder ensuite la pompe à la sortie de la vanne à l'aide de la pince du type « Tri-Clamp ».
23. Ouvrir la vanne du réservoir no 2.
24. Brancher la pompe (garder la prise à portée de main).

25. Ouvrir graduellement la vanne à la base du PBR et laisser-le se remplir jusqu'à la ligne marquant le niveau d'opération (volume d'environ 27 L).
26. Fermer la vanne du photobioréacteur.
27. Débrancher la pompe.
28. Fermer la vanne du réservoir no 2.
29. Déconnecter le tube situé à l'avant de la pompe du réservoir no 2.
30. Retirer la pince « Tri-Clamp » et déconnecter le tube de la pompe du raccord à la vanne.
31. Placer la pince « Tri-Clamp » et le joint d'étanchéité blanc dans le seau de javel.
32. Nettoyer l'embouchure de la vanne à l'aide d'un linge ayant trempé dans la javel.
33. Replacer le bouchon bleu sur l'embouchure de la vanne.
34. Rincer la pompe centrifuge à l'eau chaude avant de la ranger.
35. Laisser le temps au photobioréacteur de bien s'homogénéiser (15 à 30 min) et faire un échantillonnage et une mesure de la concentration cellulaire pour valider le point de départ à choisi (p. ex. : $20 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$).
36. Jeter le contenu du récipient contenant la culture et laver-le adéquatement à l'eau chaude (utiliser une solution savonneuse avec de la javel au besoin).

ANNEXE IX

PROCEDURE D'ECHANTILLONNAGE ET DE NETTOYAGE À SUIVRE POUR LES CONTENANTS DE STOCKAGES DE RECOLTE (PHOTOBIORÉACTEUR OPÉRÉ EN RÉCOLTE CONTINUE)

1. Mettre des gants.
2. Retirer le tube de récolte du contenant (Figure 108) et le placer dans un bécher pour le temps du nettoyage.
3. Noter le volume récolté dans le cartable.
4. Jeter le contenu du récipient contenant la culture et laver-le adéquatement à l'eau chaude (utiliser une solution savonneuse avec de la javel au besoin).
5. Essuyer le surplus d'eau et replacer le contenant à son emplacement.
6. Réinstaller le tube de récolte dans le récipient, placer le papier d'aluminium et le sac de plastique noir sur le contenant.

ANNEXE X

PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ECHANTILLONNAGE DANS LE LABORATOIRE B010 DANS LE CAS DE LA RECOLTE EN SEMI-CONTINUE

1. Mettre des gants.
2. Retirer le gobelet fixé à l'extrémité de l'échantillonneur.
3. Prélever 100mL de culture dans un bécher propre.
4. Vidanger le 100mL.
5. Prélever un 60mL de culture dans le même bécher.
6. Remplir le petit gobelet d'eau de javel à 220ppm avant de le fixer au bout de l'échantillonneur.
7. Répéter ces étapes pour chaque photobioréacteur.

ANNEXE XI

PROCEDURE A SUIVRE POUR L'ECHANTILLONNAGE DANS LE LABORATOIRE B010 DANS LE CAS DE LA RECOLTE EN CONTINU

1. Mettre des gants.
2. Retirer le sac de plastique noir du contenant rectangulaire (Figure 108) utilisé pour stocker la récolte.



Figure 108 : Contenant de stockage

3. Prendre le petit tuyau de récolte (Figure 109) qui se retrouve dans le contenant et placer-le dans le bécher spécialement identifié. Poursuivre la procédure en attendant de récolter entre 60 et 80 mL de culture.



Figure 109 : Tuyau de récolte

4. Mélanger le contenu du contenant de récolte (Figure 108) à l'aide d'une pipette ou en agitant directement le contenant de façon assez rigoureuse afin d'homogénéiser le contenu.
5. Remplir de 60 à 80 mL de culture le bécher spécialement identifié en le plongeant directement dans le contenant (Figure 110).

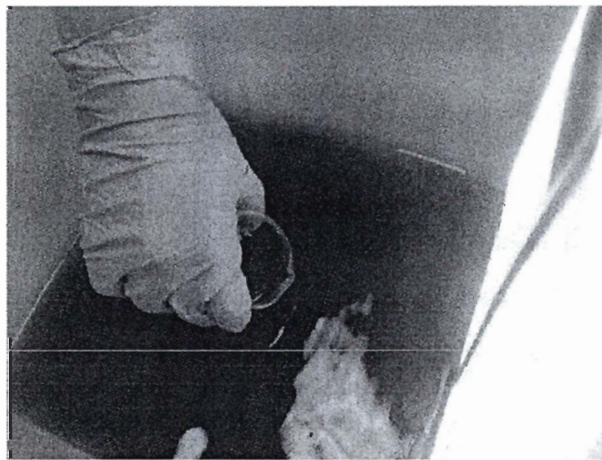


Figure 110 : Échantillonnage du récipient de stockage

ANNEXE XII
MESURES A PARTIR DU COMPTEUR DE PARTICULES



Figure 111 : « Coulter counter »

1. Mettre des gants.
2. Ouvrir la machine (Figure 111) en appuyant sur le bouton situé sur la façade avant.
3. Régler les paramètres de mesure dans le menu « Setup » aux valeurs suivantes
(s'assurer que le type de mesure est à « μm » et non à « fl ») :

« Upper bound » : 4,0 μm

« Lower bound » : 1,5 μm

« Count mode » : between

4. Prendre un petit gobelet et remplir-le d'une petite quantité de deux doses d'Isoton II (Figure 112).

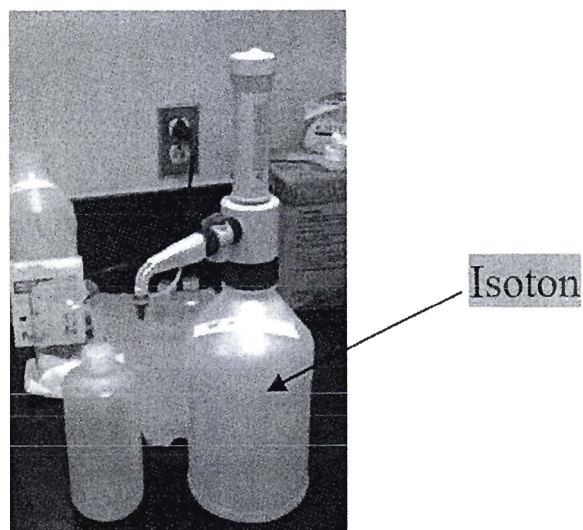


Figure 112 : Isoton II

5. Disposer le petit gobelet sur le plateau de la machine (Figure 113) et faites une mesure en appuyant deux fois sur « Start » (seulement la première fois).

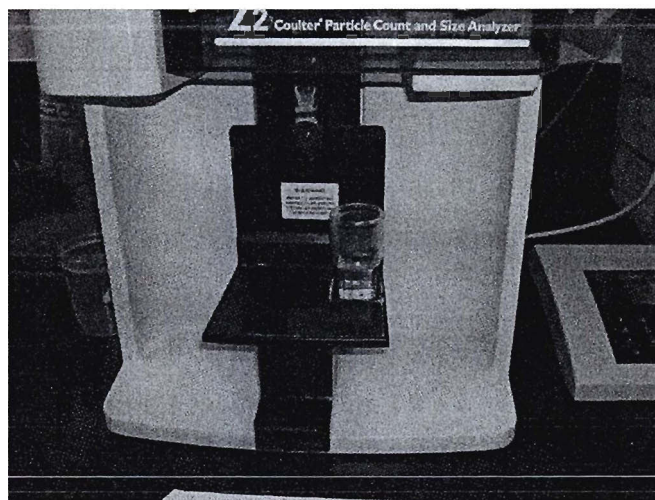


Figure 113 : Plateau de la machine

6. Appuyer sur « Output » et éliminer le bruit en vous basant sur le graphique en changeant les lignes de position (p. ex. : 2.06 à 4.8).
7. Prendre une autre mesure en appuyant sur « Start ».

8. Appuyer sur « Output » et noter la valeur du compte dans le cahier de laboratoire (il s'agit du blanc).
9. Répéter les deux dernières étapes pour obtenir une deuxième mesure du blanc.
10. Placer le gobelet d'Isoton II à côté du plateau de la machine, mais conserver-le à proximité.
11. Disposer vos échantillons en colonne (Figure 114) afin de faciliter les manipulations.



Figure 114 : Échantillons

12. Homogénéiser le contenu des béchers en le faisant tourner légèrement. Prélever 200 μL de récolte à l'aide de la pipette avec un nouveau « tip » et verser le contenu dans un petit gobelet (Figure 115). Répéter cette étape pour un deuxième gobelet.

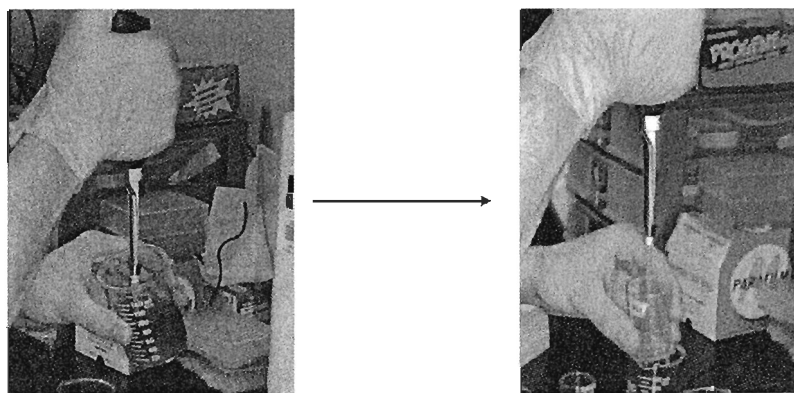


Figure 115 : Préparation des gobelets

13. Ajouter 19 800 μL (2 « coups ») d'Isoton II dans un gobelet.
14. Prendre une mesure de la concentration cellulaire en appuyant sur « Start » puis sur « Output » et noter la valeur dans le cahier de laboratoire.
15. Répéter les trois dernières étapes pour mesurer la concentration d'un autre échantillon.
16. Une fois les mesures terminées, rincer la sonde de la machine avec de l'eau distillée et un gros gobelet en faisant bien attention à ne pas toucher la sonde.
17. Prendre environ 5 mesures (sans noter les résultats) du gobelet rempli d'Isoton II afin de rincer le système de la machine.

ANNEXE XIII
UTILISATION DE LA SONDE A PH



Figure 116 : Sonde à pH

1. Appuyer sur « Power », enlever le petit capuchon qui se retrouve sur la sonde (Figure 116) et rincer abondamment le bout de la sonde avec de l'eau distillée.
2. Prendre une mesure du petit gobelet sur lequel une solution de pH 7 est identifiée afin d'avoir une mesure d'un blanc et inscrire cette mesure dans le cahier. Rincer abondamment la sonde.
3. Agiter un bécher afin de bien homogénéiser son contenu et prendre la mesure du pH.
4. Noter la valeur lorsque l'indicateur indique « Ready », retirer le bécher et rincer abondamment la sonde.
5. Répéter les étapes 3 et 4 pour les autres béchers.

ANNEXE XIV
COEFFICIENTS DU MODÈLE DYNAMIQUE (SIMULATEUR)

$$K_{S0} = 0,005 \text{ mmol} \cdot \text{Mcells}^{-1}$$

$$\mu_{\max} = 0,042 \text{ h}^{-1}$$

$$K_{SX} = 0,04 \text{ mmol} \cdot \text{Mcells}^{-1}$$

$$K_{DO0} = 88 \text{ (voir l'éq. pour les unités)}$$

$$K_{DO1} = 0,003 \text{ (voir l'éq. pour les unités)}$$

$$K_{DO2} = 7,8125 \times 10^{-18} \text{ (\% sat d'air sat)}^{-8}$$

$$K_{CO_20} = 2,232 \times 10^{-5} \text{ mmol} \cdot \text{Mcells}^{-1}$$

$$K_{CO_21} = 0,0005 \text{ (sans unités)}$$

$$K_{pH_2} = 20 \text{ (unités de pH)}^{-2}$$

$$pH_{\max} = 7,8$$

$$K_{I2} = 0,01 \text{ s}^2 \cdot \text{m}^4 \cdot \mu\text{E}^{-2}$$

$$K_{IX} = 0,04 \text{ Mcells}^{-2}$$

$$I_{\max} = 120 \mu\text{E} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$$

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abu-Rezq, T. S., L. Al-Musallam, J. Al-Shimmari et P. Dias (1999). "Optimum Production Conditions for Different High-Quality Marine Algae." Hydrobiologia **403**: pp. 97-107.

Alferes, J. (2010). "Combination of Extremum-Seeking Algorithms with Effective Hydraulic Handling of Equalization Tanks to Control Anaerobic Digesters." Water Science and Technology **61**(11): pp. 2825-2834.

Alonso, D. L., E. H. Belarbi, J. M. Fernandez-Sevilla, J. Rodriguez-Ruiz et M. Grima E. (2000). "Acyl Lipid Composition Variation Related to Culture Age and Nitrogen Concentration in Continuous Culture of the Microalga *Phaeodactylum tricornutum* " Phytochemistry **54**(5): pp. 461-471.

Amaro, H. M., A. C. Guedes et F. Xavier Malcata (2011). "Advances and Perspectives in Using Microalgae to Produce Biodiesel." Applied Energy(88): pp. 3402-3410.

Andersen, R. A. et R. Arthur (2005). Algal Culturing Techniques. Boston: Elsevier Academic Press, 596 p.

Andrews, J. F. (1968). "A Mathematical Model for the Continuous Culture of Microorganisms Utilizing Inhibiting Substrates." Biotechnology and Bioengineering(10): pp. 707-723.

Apt, K. E. et P. W. Behrens (1999). "Commercial Developments in Microalgal Biotechnology." Journal of Phycology **35**: pp. 215-226.

Ariyur, K. B. et M. Krstić (2002). Analysis and Design of Multivariable Extremum Seeking. Proc. American Control Conference: pp. 411-415.

Ariyur, K. B. et M. Krstić (2003). Real-Time Optimisation by Extremum Seeking Control. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 230 p.

Astrom, K. J. et B. Wittenmark (1995). Adaptive Control. Boston: Adison-Wesley, 596 p.

Bastin, G. et D. Dochain (1990). On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors. New York: Elsevier Science Publishing Company Inc, 379 p.

Bastin, G., D. Nesic, Y. Tan et I. Mareels. (2009). "On Extremum Seeking in Bioprocesses with Multivalued Cost Functions." American Inst. of Chemical Eng. **25**: pp. 683-689.

Becker, E. W. (2008). Microalgae: Biotechnology and Microbiology. New York: Cambridge University Press, 293 p.

Ben, M., T. Mato, A. Lopez, M. Vila, C. Kennes et M. C. Veiga. (2011). "Bioplastic Production Using Wood Mill Effluents as Feedstock." Water Science and Technology **63**(6): pp. 1196-1202.

Bernard, O. (2010). Hurdles and Challenges for Modelling and Control of Microalgae CO₂ Mitigation and Biofuel Production. 9th Int. Symposium on Dynamics and Control of Process Systems, Leuven, Belgium, Juillet 5-7, pp. 663-654.

Blackman, P. F. (1962). Extremum-Seeking Regulators, and an Exposition of Adaptive Control. New-York: The Macmillan Company, 135 p.

Borowitzka, M. A. (1997). "Microalgae for Aquaculture: Opportunities and Constraints." Journal of Applied Phycology **9**(5): pp. 393-401.

Briassoulis, D., P. Panagakis, M. Chionidis, D. Tzenos, A. Lalos, C. Tsinos, K. Berberidis et A. Jacobsen (2010). "An Experimental Helical-Tubular Photobioreactor for Continuous Production of *Nannochloropsis*." Bioresource Technology **101**: pp. 6768-6777.

Brown, M. R., M. Mular, I. Miller, C. Farmer et C. Trenerry (1999). "The Vitamin Content of Microalgae Used in Aquaculture." Journal of Applied Phycology **11**: pp. 247-255.

Burlew, J. S. (1953). Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant. Washington: Carnegie Institution of Washington (pub. no. 600), 369 p.

Chachuat, B., D. Srinivasan, et D. Bonvin (2009). "Adaptation Strategies for Real-Time Optimization." Computers and Chemical Eng. **33**: pp. 1557-1567.

Chen, C.-Y., K.-L. Yeh, R. Aisyah, D. J. Lee et J. S. Chang (2011). "Cultivation, Photobioreactor Design and Harvesting of Microalgae for Biodiesel Production: A Critical Review " Bioresource Technology **102**(1): pp. 71-81.

Chioua, M. (2008). "Synthèse d'algorithmes d'optimisation en-ligne par commande extrémale." Département de Génie Chimique. Montréal, École polytechnique de Montréal., Ph. D, 171 p.

Chioua, M., B. Srinivasan, M. Guay et M. Perrier (2007). "Dependence of the Error in the Optimal Solution of Perturbation-based Extremum Seeking Methods on the Excitation Frequency." Canadian Journal of Chemical Eng. **85**: pp. 447-453.

Chioua, M., B. Srinivasan, M. Perrier et M. Guay (2007). Effect of Excitation Frequency in Perturbation-based Extremum Seeking Methods. 8th Int. IFAC Symposium on Dynamics and Control of Process Systems. Cancun, Mexico, Juin 6-8, pp. 123-128.

Contois, D. (1959). "Kinetics of Bacterial Growth Relationship Between Population Density and Specific Growth Rate of Continuous Cultures." Journal of General Microbiology(21): pp. 40-50.

Copin-Montegut, G. (2002). Le système des carbonates. Paris: Institut Océanographique, 319 p.

Cornet, J. F., C. G. Dussap, et G. Dubertret (1992). "A Structured Model for Simulation of Cultures of the Cyanobacterium *Spirulina platensis* in Photobioreactors: I. Coupling Between Light Transfer and Growth Kinetics." Biotechnology and Bioengineering **40**: pp. 817-825.

Costa, J. A. V. et M. G. D. Moraisa (2011). "The Role of Biochemical Engineering in the Production of Biofuels from Microalgae " Bioresource Technology **102**(1): pp. 2-9.

Cougnon, P., D. Dochain, M. Guay et M. Perrier (2010). "On-line Optimization of Fedbatch Bioreactors by Adaptive Extremum Seeking Control." Journal of Process Control **21**(10): . pp. 1526-1532.

Creaby, J., Y. Li, et J. E. Seem. (2009). "Maximizing Wind Turbine Energy Capture using Multivariable Extremum Seeking Control." Wind Eng. **33**(4): pp. 361-388.

Deschênes, J.-S. (2012). Demodulation Considerations in Extremum Seeking Control Loops. 2012 American Control Conference. Montréal, Canada, Juin 27-29, pp. 3389-3396.

Deschênes, J.-S., P. N. St-Onge, J. C. Collin et R. Tremblay (2012). Extremum Seeking Control of Batch Cultures of Microalgae *Nannochloropsis oculata* in Pre-Industrial Scale Photobioreactors. 8th IFAC Symposium on Advanced Control of Chemical Processes. Furama Riverfront, Singapore, Juillet 10-13, pp. 585-591.

Deschênes, J. S. et P. N. St-Onge (2013). Achievable performances in basic perturbation-based extremum seeking control for Wiener-Hammerstein Plants. IEEE Conf. Decision Control. Florence, Italie (accepté pour publication, juillet 2013).

Dewasme, L., B. Srinivasan, M. Perrier et A. V. Wouwer (2011). "Extremum-Seeking Algorithm Design for Fed-Batch Cultures of Microorganisms with Overflow Metabolism." Journal of Process Control **21**: pp. 1092-1104.

Dimitrova, N. et M. Krastanov (2009). "Nonlinear Stabilizing Control of an Uncertain Bioprocess Model." Int. Journal of Applied Math. and Computer Science **19**(3): pp. 441-454.

Dimitrova, N. et M. Krastanov (2010). "Nonlinear Adaptive Control of a Model of an Uncertain Fermentation Process." Int. Journal of Robust and Nonlinear Control **20**: pp. 1001-1009.

Dochain, D. (2008). Bioprocess Control. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 288 p.

- Dochain, D., M. Perrier et M. Guay (2011). "Extremum Seeking Control and its Application to Process and Reaction Systems: A Survey." Math. and Computers in Simulation **82**: pp. 369-380.
- Drapper, C. S. et Y. T. Li (1951). "Principles of Optimizing Control Systems and an Application to the Internal Combustion Engine." ASME **160**: pp. 1-16.
- Evers, E. G. (1990). "A Model for Light-Limited Continuous Cultures: Growth, Shading, and Maintenance." Biotechnology and Bioengineering **38**: pp. 254-259.
- Favache, A., D. Dochain, M. Perrier et M. Guay (2008). "Extremum-Seeking Control of Retention for a Microparticulate System." Canadian Journal of Chemical Eng. **86**: pp. 815-827.
- Fleck-Schneider, P. (2007). "Modelling of Growth and Product Formation of *Porphyridium purpureum*." Journal of Biotechnology **132**: pp. 134-141.
- Fraboulet E., Tremblay R., Deschênes J-S., Nadalini J.B., Diouf D., Fournier R., Koonjul P., Maturation d'une technologie de production de micro-algues pour le marché de l'aquaculture et des biomolécules marines. Rapport Final, Programme de Soutien à la Valorisation et au Transfert (PSVT), Volet 3, Montréal (Qc), Canada, Octobre 2010, 144 p.
- Franco-Lara, E., J. Havel, F. Peterat et D. Weuster-Botz (2006). "Model-Supported Optimization of Phototrophic Growth in a Stirred-Tank Photobioreactor." Biotechnology and Bioengineering **95**(6): pp. 1177-1187.
- Frantsuzova, G. A. (2011). "Use of a Relay Controller for Automatic Extremum Seeking in Nonlinear Systems." Optoelectronics, Instrumentation and Data Processing **47**(3): pp. 274-280.
- Frey, A. L., W. B. Deem, et R. J. Altpeter (1966). Stability and Optimal Gain in Extremum-Seeking Adaptive Control of a Gas Furnace. Proc. of the Third IFAC World Congress. London: 48A.
- Fu, L. and Ü. Özgüner (2011). "Extremum Seeking with Sliding Mode Gradient Estimation and Asymptotic Regulation for a Class of Nonlinear Systems." Automatica **47**: pp. 2595-2603.
- Gelig, A. et A. Churilov (1998). Stability and Oscillations of Nonlinear Pulse Modulated Systems. Boston: Birkhauser, 363 p.
- Goodwin, G. C. et K. S. Sin (1984). Adaptive Filtering Prediction and Control. Englewood Cliffs: Dover Publications, 560 p.

Grima, E. M., F. G. A. Fernandez, F. Garca Camacho et Y. Chisti (1999). "Photobioreactors: Light Regime, Mass Transfer and Scale Up." Journal of Biotechnology **70**: pp. 231-247.

Guay, M., D. Dochain, et M. Perrier (2002). "Adaptive Extremum Seeking Control of Continuous Stirred Tank Bioreactors with Unknown Growth Kinetics." Automatica **40**: 881-888.

Guay, M. et T. Zhang (2003). "Adaptive Extremum Seeking Control of Nonlinear Dynamic Systems with Parametric Uncertainties." Automatica **39**: pp. 1283-1293.

Haldane, J. B. S. (1930). "Enzymes." Journal of The Society of Chemical Industry **49**(44): pp. 919-920.

Haykins, S. et B. V. Veen (2005). Signals and Systems. Hoboken: John Wileys and Sons, 820 p.

Hoff, F. H. et T. W. Snell (2008). Plankton Culture Manual. Dade City: Aqua Farms Inc, 183 p.

Iannelli, L., K. H. Johanson, U. T. Jönsson et F. Vasca (2003). "Dither for Smoothing Relay Feedback Systems: An Averaging Approach." IEEE Transactions on Circuits and Systems, Part I **50**(8): pp. 1025-1035.

Ioannou, P. A. et J. Sun (1995). Stable and Robust Adaptive Control. Englewood Cliffs: PTR Prentice-Hall, 825 p.

Jacobs, O. L. R. et G. C. Shering (1968). "Design of a Single-Input Sinusoidal-Perturbation Extremum-Control System." Proc. IEEE **115**: pp. 212-217.

Kazakevich, V. V. (1960). "Extremum control of objects with inertia and of unstable objects." Soviet Physics **5**: pp. 658-661.

Killingsworth, N. J., S. M. Aceves, D. L. Flowers, F. Espinosa-Loza et M. Krstic (2009). "HCCI Engine Combustion-Timing Control: Optimizing Gains and Fuel Consumption Via Extremum Seeking." IEEE Transactions on Control Systems Technology **17**(6): pp. 1350-1361.

Killingsworth, N. J., S. M. Aceves, D. L. Flowers et M. Krstic (2007). "Extremum Seeking Tuning of an Experimental HCCI Engine Combustion Timing Controller." American Control Conference. New York City, USA, Juillet 11-13, pp. 3665-3670.

Killingsworth, N. J. et M. Krstić (2006). "PID Tuning Using Extremum Seeking." IEEE Control System Magazine: pp. 70-78.

Kokotovic, P. (1992). "The Joy of Feedback : Nonlinear and Adaptive." IEEE Control System Magazine **12**: pp. 7-17.

Krasovskii, A. A. (1963). Dynamics of Continuous Self-Tuning Systems. Moscow: Fizmatgiz.

Krstić, M. (1998). "Performance Improvement and Limitations in Extremum Seeking Control." Systems and Control Letters **39**: pp. 313-326.

Krstić, M. et J. Cochran (2008). Extremum Seeking for Motion Optimization: From Bacteria to Nonholonomic Vehicles. Chinese Control and Decision Conference. Yantai, Chine, Juillet 2-4, pp. 18-27.

Krstić, M., I. Kanellakopoulos et P. V. Kokotovic (1995). Nonlinear and Adaptive Control Design. New-York: Wiler-Interscience, 576 p.

Krstić, M. et H.-H. Wang (2000). "Stability of Extremum Seeking Feedback for General Nonlinear Dynamic Systems." Automatica **36**: pp. 595-601.

Leblanc, M. (1922). "Sur l'électrification des chemins de fer au moyen de courants alternatifs de fréquence élevée." Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences **175**: pp. 196-200.

Li, J., N. S. Xu, W. W. Su (2003). "Online Estimation of Stirred-Tank Microalgal Photobioreactor Cultures Based on Dissolved Oxygen Measurement." Biochemical Eng. Journal(14): pp. 51-65.

Li, P., Y. Li et J. E. Seem. (2009). "Extremum Seeking Control for Efficient and Reliable Operation of Air-Side Economizers." American Control Conference. Hyatt Regency Riverfront, St. Louis, MO, USA, Juine 10-12, pp. 20-25.

Li, Y., M. A. Rotea, G. T. C. Chiu et L. G. Mongeau (2005). "Extremum Seeking Control of a Tunable Thermoacoustic Cooler." IEEE Transactions on Control Systems Technology **13**(4): pp. 527-536.

Loubière, K., E. Olivo, G. Bougaran, J. Pruvost, R. Robert et J. Legrand (2009). "A New Photobioreactor for Continuous Microalgal Production in Hatcheries Based on External-Loop Airlift and Swirling Flow." Biotechnology and Bioengineering **102**(1): pp. 132-147.

Lourenço, S. O., E. Barbarino, et al. (2002). "Effects of Different Nitrogen Sources on the Growth and Biochemical Profile of 10 Marine Microalgae in Batch an Evaluation for Aquaculture." Phycologia **41**: pp. 158-168.

Mairet, F., O. Bernard, T. Lacour et A. Sciandra (2011). "Modelling Microalgae Growth in Nitrogen Limited Photobioreactor for Estimating Biomass, Carbohydrate and Neutral Lipid Productivities." 18th IFAC World Congress. Milano, Italy, Août 28 - Septembre 2, pp. 10591-10596.

- Mairet, F., O. Bernard, P. Masci, T. Lacour et A. Sciandra (2010). "Modelling Lipid Production in Microalgae." 9th Int. Symposium on Dynamics and Control of Process Systems. M. T. Mayuresh Kothare, Alain Vande Wouwer, Ilse Smets. Leuven, Belgique, Juillet 5-8, pp. 479-484.
- Marchetti, A., B. Chachuat et D. Bonvin (2009). "Modifier-Adaptation Methodology for Real-Time Optimization." Industrial and Eng. Chemistry Research **48**(13): pp. 6022-6033.
- Marcos, N. I., M. Guay et D. Dochain (2004). "Output Feedback Adaptive Extremum Seeking Control of a Continuous Stirred tank Bioreactor with Monod's Kinetics." Journal of Process Control **14**: pp. 807-818.
- Marcos, N. I., M. Guay, D. Dochain et T. Zhang (2004). "Adaptive Extremum-Seeking Control of a Continuous Stirred Tank Bioreactor with Haldane's Kinetics." Journal of Process Control **14**: pp. 317-328.
- Martinez, E. (2007). Extremum-Seeking Control of Redox Processes in Wastewater Chemical Plants 17th European Symposium on Computer Aided Process Eng.. Bucharest, Roumanie, Mai 27-30, pp. 1-6.
- Mata, T. M., A. A. Martins et N. S. Caetano (2010). "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review." Renewable Sustainable Energy **14**: pp. 217-232.
- Merchuck, J. C. et X. Wu (2003). "Modeling of Photobioreactors: Application to Bubble Column Simulation." Journal of Applied Phycology **15**: pp. 163-169.
- Merkov, S. M. (1967). "Asymptotic Methods for Investigating a Class of Forced States in Extremal Systems." Automation and Remote Control **12**: pp. 1916-1920.
- Merkov, S. M. (1967a). "Asymptotic Methods for Investigating Quasi-Stationary States in Continuous Systems of Automatic Optimization." Automation and Remote Control **11**: pp. 1726-1743.
- Merkov, S. M. (1967b). "Asymptotic Methods for Investigating Stability of Continuous Systems of Automatic Optimization Subjected to Disturbance Action." Avtomatika i Telemekhanika **112**: pp. 14-24.
- Michaelis, L. et M. L. Menten (1913). "Die kinetic der Invertinwirkung." Biochemische Zeitschrift(**49**): pp. 334-369.
- Monod, J. (1942). Recherches sur la croissance des Cultures Bactériennes. Paris: Hermann, 210 p.
- Nguang, S. K. et X. D. Cheng (2000). "Extremum Seeking scheme for continuous fermentation processes described by an unstructured fermentation model." Bioprocess Eng. **23**: pp. 417-420.

Nigam, P. S. et A. Singh (2011). "Production of Liquid Biofuels From Renewable Resources." Progress in Energy and Combustion Science **37**(1): pp. 52-68.

Ogata, K. (2010). Modern Control Engineering. Upper Saddle River: Prentice Hall, 912 p.

Ogbonna, J. C., H. Yada et H. Tanaka (1995). "Light Supply Coefficient: a New Engineering Parameter for Photobioreactor Design." Journal Fermentation and Bioengineering **80**: pp. 369-376.

Ostrovskii, I. I. (1957). "Extremum Regulation." Automatic and Remote Control **18**(900-907).

Parks, P. (1966). "Liapunov Redesign of Model Reference Adaptive Control Systems." IEEE Transactions on Automatic Control **AC11**(3): pp. 362-327.

Pervozvanskii, A. A. (1960). "Continuous Extremum Control System in the Presence of Random Noise." Automatic & Remote Control **21**: pp. 673-677.

Peterson, K. S. et A. G. Stefanopoulou (2004). "Extremum Seeking Control for Soft Landing of an Electromechanical Valve Actuator." Automatica **40**: pp. 1063-1069.

Pomerleau, A. et É. Poulin (2004). "Manipulated Variable Based PI Tuning and Detection of Poor Settings: An Industrial Experience." ISA Transaction **43**(3): pp. 445-457.

Poulin, É et A. Pomerleau (1996). "PID tuning for integrating and unstable processes." IEE Proc. Control Theory Applications **143**: pp. 429-435.

Popović, D., M. Janković, S. Magner et A. R. Teel (2006). "Extremum Seeking Methods for Optimisation of Variable Cam Timing Engine Operation." IEEE Transactions on Control Systems Technology **14**(3): pp. 398-407.

Prescott, M. P., J. P. Harley et D. A. Klein (2003). Microbiologie. Bruxelles: De Boeck Services, 1137 p.

Pruvost, J., J. Legrand, P. Legentilhomme et A. Muller-Feuga (2002). "Simulation of Microalgae Growth in Limiting Light Conditions: Flow Effect." AIChE Journal **48**(5): pp. 1109-1120.

Pulz, O. et W. Gross (2004). "Valuable Products from Biotechnology of Microalgae." Applied Microbiology and Biotechnology **65**: pp. 635-648.

Richmond, A. (2004). Handbook of Microalgal Culture. Oxford: Blackwell Science, 584 p.

Richmond, A. et J. U. Grobbelaar (1986). "Factors Affecting the Output Rate of *Spirulina platensis* With the Reference to Mass Cultivation." Biomass(**10**): pp. 253-264.

Rotea, M. A. (2000). Analysis of Multivariable Extremum Seeking Algorithm. Proc. American Control Conference **1**(6): pp. 433-437.

Rozzi, A. (1984). "Modelling and Control of Anaerobic Digestion Processes." Transactions of the Institute of Measurement and Control **6**(3): pp. 153-159.

Seborg, D. E., T. F. Edgar et A. Mellichamp (2004). Process Dynamics and Control. Hoboken: John Wiley & Sons, 514 p.

Sepulchre, R., M. Jankovic et P. V. Kokotovic (1997). Constructive Nonlinear Control. New-York: Springer, 313 p.

Shuler, M. L. et F. Kargi (2002). Bioprocess Engineering. Upper Saddle River: Prentice Hall, 576 p.

Simeonov, I. et S. Stoyanov (2011). "Modelling and Extremum Seeking Control of a Cascade of Two Anaerobic Bioreactors." Int. Journal of Bioautomation **15**(1): pp. 13-24.

Skogestad, S. (2000). "Self-Optimizing Control: the Missing Link Between Steady-State Optimization and Control." Computers and Chemical Engineering **24**: pp. 569-575.

Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran et A. Isambert (2006). "Optimization of *Nannochloropsis oculata* Growth Using the Response Surface Method." Journal of Chemical Technology and Biotechnology(**81**): pp. 1049-1056.

Srinivasan, B. et D. Bonvin (2002). Interplay Between Identification and Optimization in Run-to-Run Optimization Schemes. American Control Conference. Anchorage, USA, 8-10 Mai, pp. 2174-2179.

Sterby, J. (1980). Extremum control systems: An Area for Adaptive Control? Joint American Control Conference. San Francisco, USA.

Tan, Y., D. Nešić et I. Mareels (2006). "On non-local stability properties of extremum seeking control." Automatica **42**: pp. 889-903.

Tan, Y., D. Nešić et I. Mareels (2008). "On the choice of dither in extremum seeking systems: A case study." Automatica **28**: pp. 1446-1450.

Taya, M., M. Miya-Oka, Y. Toyo-Oka, M. Kino-Oka, S. Tone et K. Ono (1995). "Growth Characteristics of Liverwort Cells, in a Photoautotrophic Suspension Culture." Journal of Fermentation and Bioengineering **80**: pp. 580-585.

Teel, A., L. Moreau et D. Nesic (2004). "Input-to-State Set Stability of Pulse Width Modulated Systems with Disturbances." Systems and Control Letters **51**: pp. 23-32.

Tessier, G. (1942). "Croissance des population bactériennes et quantités d'aliments disponibles." Revue Scientifique.

Titica, M., D. Dochain et M. Guay (2003a). "Real-Time Optimization of Fed-Batch Bioreactors via Adaptive Extremum-Seeking Control." Transactions of IChemE. **81**: pp. 1289-1295.

Titica, M., D. Dochain, et M. Guay (2003b). "Adaptive Extremum-Seeking Control of Fed-Batch Bioreactors." European Journal of Control **9**(6): pp. 618-631.

Topiwala, H. et C. G. Sinclair (1971). "Temperature Relationship in Continuous Culture." Biotechnology and Bioengineering **13**: pp. 795-813.

Tsien, H. S. (1954). Engineering Cybernetics. New-York: McGraw Hill Book Company, 289 p.

Walsh, G. (2000). On the Application of Multiparameter Extremum Seeking Control. Proc. American Control Conference, Chicago, USA, Juin 28-30, pp. 2903-2908.

Wang, H.-H., M. Krstic et G. Bastin (1999). "Optimizing Bioreactors by Extremum Seeking." Int. Journal of Adaptive Control and Signal Processing **13**: pp. 651-669.

Wilde, D. J. (1964). Optimum Seeking Methods. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 202 p.

Wittenmark, B. et J. Evans (2001). "Extremal Control of Weiner Model Processes." Proc of the 41st IEEE Conference on Decision and Control **4**: pp. 4637-4642.

Wu, C.-S. (2011). "Performance and Biodegradability of a Maleated Polyester Bioplastic/Recycled Sugarcane Bagasse System." Journal of Applied Polymer Science **121**(1): pp. 427-435.

Wu, X. et J. C. Merchuk (2001). "A Model Integrating Fluid Dynamics in Photosynthesis and Photoinhibition Processes." Chemical Eng. Science **56**: pp. 3527-3538.

Yaodong, P., Ü. Özgüner et T. Acarman (2003). "Stability and performance improvement of extremum seeking control with sliding mode." Int. Journal of Control **76**(9-10): pp. 968-985.

Zames, G. et N. A. Shneydor (1977). "Structural stabilization and quenching by dither in non-linear systems." IEEE Transactions on Automatic Control **22**(3): pp. 352-361.

Zhang, C., A. Siranosian, et M. Krstic (2007). "Extremum seeking for moderately unstable systems and for autonomous vehicle target tracking without measurements." Automatica **43**: pp. 1832-1839.

Zhang, T., M. Guay et D. Dochain (2003). "Adaptive Extremum Seeking Control of Continuous Stirred-Tank Bioreactors." AIChE **49**(1): pp. 113-123.

Zhang, X. T., D. M. Dawson, W. E. Dixon et B. Xian (2006). "Extremum-Seeking Nonlinear Controllers for a Human Exercise Machine." IEEE/ASME Transactions on Mechatronics **11**(2): pp. 233-240.

Zhang, Y., M. Rotea, et N. Gans (2011). Sensors searching for interesting things: Extremum seeking control on entropy maps. 50th IEEE Conf. on Decision and Control and European Control Conf. Orlando, USA, Décembre 12-15, pp. 4985-4991.

Zhang, Y., J. Shen, M. Rotea et N. Gans (2011). Robots looking for interesting things: Extremum seeking control on saliency maps. IEEE Int. Conf. on Intelligent Robots Systems. San Francisco, USA, Septembre 25-30, pp. 1180-1186.

